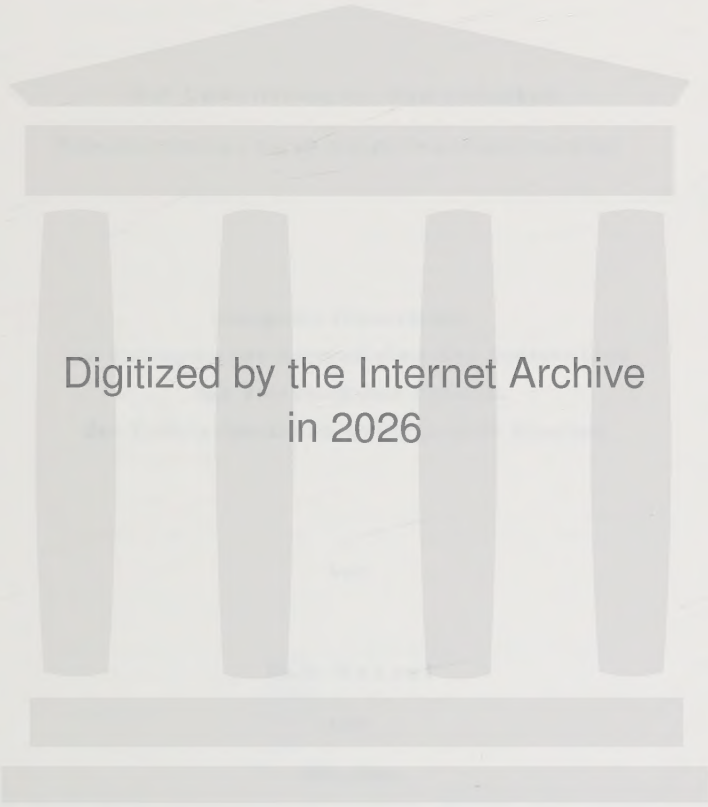


**Zur Inaktivierung von
Staphylokokken-Rohenterotoxinen
durch einige Desinfektionsmittel**

Karl Wenzel

1981



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Hygiene und Technologie
der Lebensmittel tierischen Ursprungs
(Lehrstuhl: Prof. Dr. G. Terplan)
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Zur Inaktivierung von Staphylokokken-
Rohenterotoxinen durch einige Desinfektionsmittel

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Karl Wenzel

aus

München

München 1981

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. von Sandersleben

Referent: Prof. Dr. G. Terplan

Korreferent: Prof. Dr. H.-G. Liebich

Tag der Promotion: 27. Februar 1981



Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. <u>Einleitung</u>	1
2. <u>Schrifttum</u>	2
2.1 Staphylokokken-Enterotoxine	2
2.1.1 Serologische Eigenschaften	2
2.1.2 Chemischer Aufbau und Struktur	3
2.2 Einflüsse auf die Stabilität der Staphylokokken-Enterotoxine	6
2.2.1 Denaturierende Substanzen	7
2.2.2 Hohe Temperaturen	10
2.2.3 Desinfektionsmittel	12
2.2.4 Veränderung spezifischer Enterotoxin-Strukturen durch chemische Substanzen	14
2.3 Eigenschaften und Wirkung von Chloramin T, Kaliumpermanganat und Peressigsäure	17
2.3.1 Wirkungsmechanismus in Abhängigkeit von pH-Wert, Temperatur und Eiweißbelastung	17
2.3.1.1 Chloramin T	17
2.3.1.2 Peroxide	21
2.3.2 Einige Gesichtspunkte bei der praktischen Anwendung	22
3. <u>Eigene Untersuchungen</u>	26
3.1 Detoxifizierung von Staphylokokken-Enterotoxin-Kulturfiltraten	26
3.1.1 Material	26
3.1.2 Methode	29
3.1.2.1 Einfluß von Chloramin T, Peressigsäure bzw. Kaliumpermanganat bei Zimmertemperatur	29
3.1.2.2 Einfluß von Chloramin T, Peressigsäure bzw. Kaliumpermanganat bei Erhitzung auf 50°C bzw. 70°C	30
3.1.2.3 Einfluß von Chloramin T bzw. Kaliumpermanganat bei unterschiedlichen pH-Werten	31
3.1.3 Ergebnisse	31

	Seite
3.1.3.1	Einfluß von Chloramin T auf die serologische Aktivität enterotoxinhaltiger Kulturfiltrate
	31
3.1.3.1.1	Versuche bei Zimmertemperatur
	31
3.1.3.1.2	Versuche bei 50°C bzw. 70°C
	33
3.1.3.1.3	Versuche bei unterschiedlichen pH-Werten
	35
3.1.3.1.4	Vergleich der Versuchsergebnisse
	37
3.1.3.2	Einfluß von Kaliumpermanganat auf die serologische Aktivität enterotoxinhaltiger Kulturfiltrate
	40
3.1.3.2.1	Versuche bei Zimmertemperatur
	40
3.1.3.2.2	Versuche bei 50°C bzw. 70°C
	42
3.1.3.2.3	Versuche bei unterschiedlichen pH-Werten
	42
3.1.3.2.4	Vergleich der Versuchsergebnisse
	45
3.1.3.3	Einfluß von Peressigsäure auf die serologische Aktivität enterotoxinhaltiger Kulturfiltrate
	47
3.1.3.3.1	Versuche bei Zimmertemperatur
	47
3.1.3.3.2	Versuche bei 50°C bzw. 70°C
	50
3.1.3.3.3	Vergleich der Versuchsergebnisse
	51
3.2	Detoxifizierung von SE-kontaminiertem Trinkwasser mit Chloramin T, Kaliumpermanganat, Peressigsäure bzw. Jod
	52
3.2.1	Material und Methode
	52
3.2.2	Ergebnisse
	53
4.	<u>Besprechung der Ergebnisse und Diskussion</u>
	57
5.	<u>Zusammenfassung / Summary</u>
	74
6.	<u>Literaturverzeichnis</u>
	78

1. Einleitung

Staphylokokken-Intoxikationen gehören zu den häufigsten bakteriell bedingten Lebensmittelvergiftungen. Bei der Herstellung hochgereinigter Antigene, die zur Produktion spezifischer Antikörper im Hinblick auf den serologischen Nachweis der für die Intoxikationen verantwortlichen Enterotoxine benötigt werden, aber auch bei Forschungsarbeiten mit den Enterotoxinen ist es nahezu unvermeidlich, daß Geräte, Glaswaren, Arbeitsplätze, Abwasser etc. kontaminiert werden. Da schon geringe Toxin-Konzentrationen, die unter Umständen als Aerosol eingeatmet werden, eine Intoxikation hervorrufen können, ist es sehr wichtig, über geeignete Inaktivierungsmaßnahmen zu verfügen.

Ziel dieser Arbeit war es, optimale Bedingungen für die Anwendung von solchen Desinfektionsmitteln (Kaliumpermanganat, Chloramin T und Peressigsäure) zur Dekontamination von Staphylokokken-Rohenterotoxinen zu ermitteln, die sich in bisherigen Untersuchungen als am aussichtsreichsten erwiesen hatten. Dabei sollten der Einfluß von Toxin- und Proteinkonzentration der Rohenterotoxine sowie von Temperatur und pH-Wert der Enterotoxin-Desinfektionsmittel-Gemische berücksichtigt werden. Von Interesse war ferner, ob Unterschiede hinsichtlich der Detoxifizierungsraten der Enterotoxine A, B, C₁ und E bestehen und welches von den geprüften Verfahren sich auch unter praktischen Bedingungen anbietet. In orientierenden Versuchen sollte außerdem geprüft werden, ob die erwähnten Desinfektionsmittel geeignet sind, mit Rohenterotoxin kontaminiertes, organoleptisch unverändertes Trinkwasser für den menschlichen Genuß wieder nutzbar zu machen.

2. Schrifttum

2.1 Staphylokokken-Enterotoxine

2.1.1 Serologische Eigenschaften

Staphylokokken-Enterotoxine (SE) sind als Proteine besonders wirkungsvolle Immunogene. Aufgrund der spezifischen antigenen Determinanten wird im lebenden Organismus die Bildung spezifischer Antikörper angeregt. Mit dem Nachweis eines spezifischen präzipitierenden Antikörpers mit enterotoxinneutralisierender Eigenschaft wurde von BERGDOLL et al. (1959a) der Grundstein für den serologischen Nachweis von SE gelegt. Bis heute sind mit Sicherheit fünf serologisch sich unterscheidende SE-Typen identifiziert worden, die entsprechend einer Übereinkunft (CASMAN et al., 1963) nach dem Alphabet bezeichnet wurden:

- Typ A - SEA - (CASMAN, 1960)
- Typ B - SEB - (BERGDOLL et al., 1959b)
- Typ C - SEC - (BERGDOLL et al., 1965)
- Typ D - SED - (CASMAN et al., 1967)
- Typ E - SEE - (BERGDOLL et al., 1971).

Bei SEC wurde später zwischen SEC_1 (BORJA und BERGDOLL, 1967) und SEC_2 (AVENA und BERGDOLL, 1967) unterschieden, zwei Varianten, die im wesentlichen durch verschiedene isoelektrische Punkte (SEC_1 : 8,6; SEC_2 : 7,0) gekennzeichnet sind, jedoch auch in den antigenen Eigenschaften nicht vollständig übereinstimmen (BERGDOLL und ROBBINS, 1973).

Ein sechster von THOTA et al. (1973) isolierter und beschriebener Toxintyp (SEF) wurde nicht allgemein als solcher akzeptiert (MINOR und MARTH, 1976), obwohl das betreffende Antigen sich wie SE verhielt und im Affenfütterungstest ein positives Resultat erbrachte. Auch nach Ansicht von BERGDOLL (1980) handelt es sich bei diesem Antigen nicht um ein Enterotoxin. Er schlägt daher vor, einen erst kürzlich in den USA isolierten Enterotoxintyp, der für die Auslösung des sog. toxic

shock syndrome des Menschen verantwortlich ist, als Enterotoxin F zu bezeichnen. Unabhängig von diesen unterschiedlichen Auffassungen ist davon auszugehen, daß weitere, bisher noch nicht isolierte und charakterisierte SE-Typen existieren (MINOR und MARTH, 1976).

Nach zahlreichen Untersuchungen, zuletzt von LEE et al. (1978) und SPERO et al. (1978), gilt eine serologische Verwandtschaft zwischen SEA und SEE einerseits bzw. SEB und SEC andererseits als erwiesen. Nach Angaben von CHANG und BERGDOLL (1979) ist darüber hinaus davon auszugehen, daß auch eine gewisse Beziehung zwischen SEA, SEE und SED besteht. Die von GRUBER und WRIGHT (1969) sowie JOHNSON et al. (1972) erwähnten Kreuzreaktionen zwischen SEA und SEB konnten allerdings von anderen Untersuchern (LEE et al., 1978; SPERO et al., 1978) nicht bestätigt werden.

2.1.2 Chemischer Aufbau und Struktur

Alle SE bestehen aus einer einzigen Polypeptidkette, die ausschließlich Aminosäuren enthält, darunter einen hohen Anteil an Lysin, Asparaginsäure und Glutaminsäure (BERGDOLL, 1972). Hinsichtlich der Aminosäurezusammensetzung gibt es jedoch teilweise erhebliche Unterschiede zwischen den einzelnen SE-Typen (Übersicht 1). Auffallend ist die Ähnlichkeit zwischen SEA, SED und SEE einerseits und SEB, SEC₁ und SEC₂ andererseits (BERGDOLL et al., 1974; CHANG und BERGDOLL, 1979). So enthalten SEA, SED und SEE mehr Arginin und Leucin, aber weniger Lysin, Asparaginsäure und Methionin als SEB, SEC₁ und SEC₂. SEC₁ und SEC₂ unterscheiden sich nur geringfügig, selbst ihre C- bzw. N-terminalen Aminosäuren sind identisch (HUANG et al., 1967). Bemerkenswert ist, daß alle SE nur über zwei Halbcystinreste verfügen, die durch eine Disulfidbrücke verknüpft sind (BERGDOLL und ROBBINS, 1973). Die Molekulargewichte der einzelnen SE-Typen reichen von 27 800 für SEA bis zu 34 100 für SEC₁; die isoelektrischen Punkte reichen von 7,0 (SEC₂, SEE) bis zu 8,6 (SEB, SEC₁). Die hohen alkalischen Werte werden auf Überschüsse an basi-

schen Aminosäurenresten zurückgeführt (BERGDOLL, 1972). Eine Zusammenstellung weiterer chemisch-physikalischer Eigenschaften der SE findet sich bei MINOR und MARTH (1976).

Bislang ist lediglich die Aminosäuresequenz (Primärstruktur) von SEB restlos aufgeklärt (HUANG und BERGDOLL, 1970). Ein wesentliches Merkmal der SEB-Kette, die sog. "Cystinschleife", die durch die Disulfidbrücke zwischen Position 92 und 112 des Moleküls gebildet wird, scheint auch bei den übrigen SE-Typen - zumindest in ähnlicher Form - vorzuliegen (BERGDOLL et al., 1974). Vom SEA ist z.B. zwar erst ein Teil der Aminosäuresequenz der Cystinschleife und der anschließenden Aminosäurenkette bekannt, doch sind ein zusammenhängender Abschnitt von sieben Aminosäuren beginnend mit einem Halbcystinrest sowie vier weitere Aminosäuren mit dem entsprechenden Abschnitt im SEB identisch. Es wird daher vermutet, daß dieser Teil des Moleküls die toxische Determinante der SE darstellt (HUANG et al., 1975). Eine weitere Ähnlichkeit in der Aminosäuresequenz von SEA und SEB besteht bei dem anderen Halbcystinrest (Position 92 des Moleküls). Hier entsprechen sich zwei Aminosäuren unmittelbar neben der Cystin-Bindungsstelle sowie zwei weitere Aminosäuren in der weiteren Aminosäuresequenz, so daß eine Ähnlichkeit vorliegt. Dieser Teil des Moleküls ist vermutlich die antigene Determinante der SE (HUANG et al., 1975), die zwar - wie im vorigen Abschnitt aufgezeigt wurde - eine serologische Verwandtschaft zwischen einzelnen Typen bedingt, nicht aber eine Identität.

MUNOZ et al. (1976) führten systematische Bestimmungen des Circular dichroismus^{x)} (CD) von SEB durch, um weitere Aufschlüsse über die Struktur zu erhalten. Sie fanden bezüglich der Sekundärstruktur, daß 9 % des SEB als α -Helix, 38 % als β -Faltblatt und 53 % als Windung vorliegen. Sie vermuteten ferner, daß die antiparallelen β -Faltblattstrukturen im Bereich der Disulfidbrücke und im Bereich der Amino-

x) Unterschiedliche Absorption polarisierten Lichts durch optisch asymmetrische Gruppen eines Moleküls.

Übersicht 1: Anzahl der Aminosäurenreste der Staphylokokken-Enterotoxine

Aminosäure	Enterotoxin- Typ					
	SEA (1)	SEB (2)	SEC ₁ (3)	SEC ₂ (3)	SED (4)	SEE (5)
Lysin	25	33	38	37	28	25
Histidin	7	5	7	7	5	7
Arginin	7	5	4	4	6	8
Asparaginsäure	38	44	53	54	40	38
Threonin	17	13	18	20	12	18
Serin	10	14	18	19	16	16
Glutaminsäure	27	20	24	24	28	28
Prolin	4	6	8	8	4	6
Glyzin	15	9	18	17	13	21
Alanin	8	5	9	8	8	10
Halbcystin	2	2	2	2	2	2
Valin	14	16	22	20	12	13
Methionin	2	8	8	9	2	1
Isoleucin	10	9	12	12	15	11
Leucin	25	16	20	18	23	26
Tyrosin	19	21	21	21	12	18
Phenylalanin	8	12	12	12	9	9
Tryptophan	2	1	2	2	1	2
Summe	240	239	296	294	236	259

- (1) SCHANTZ et al. (1972)
- (2) HUANG und BERGDOLL (1970)
- (3) HUANG et al. (1967)
- (4) CHANG und BERGDOLL (1979)
- (5) BORJA et al. (1972)

säurenreste der Positionen 184-217 von besonderer Bedeutung für die Stabilität von SEB sind. SPERO et al. (1976) stellten dann eine weitgehende Übereinstimmung der CD-Spektren von SEB und SEC₁ fest. Mit verfeinerten Methoden gelang es schließlich MIDDLEBROOK et al. (1980) nachzuweisen, daß SEA, SEB und SEC₁ zwar hinsichtlich der sekundären und tertiären Struktur grundlegende Ähnlichkeiten aufweisen, die Konformation jedes Typs aber unterschiedlich ist. Dabei sind die Typen SEB und SEC₁ relativ ähnlich, während der Typ SEA stärker davon abweicht. Diese Autoren bestätigen ferner die Angaben von MUNOZ et al. (1976), daß die sekundäre Struktur der Enterotoxine nur zu einem geringen Teil helixartige Anordnung aufweist. Die Sekundärstruktur von SEB erbrachte z.B., daß 29 Aminosäurenreste in der α -Helix, 71 als β -Faltblatt, 88 als β -Windung und 55 in aperiodischer Konformation vorliegen.

2.2 Einflüsse auf die Stabilität der Staphylokokken-Enterotoxine

Die Enterotoxine sind kompakte, ellipsoide Moleküle und gegenüber äußeren Einflüssen recht stabil (AVENA et al., 1967; BORJA und BERGDOLL, 1967; CHANG und BERGDOLL, 1979; CHU et al., 1966; WAGMAN et al., 1965). Aufgrund der Untersuchungen von SPERO et al. (1965) sowie CHU (1968) ist davon auszugehen, daß polare Gruppen - insbesondere 15 Tyrosinreste - im Inneren der Enterotoxinmoleküle durch Interaktionen (Ausbildung von Nebenvalenzen) mit anderen Seitenketten einen zentralen Kern bilden, der die native stabile Struktur aufrechterhält. Trotz der ausgeprägten Stabilität der SE sind einige Möglichkeiten zur Inaktivierung (Detoxifizierung) der serologischen und/oder biologischen Aktivität beschrieben worden. Hierzu gehören insbesondere der Einsatz von eiweißdenaturierenden Substanzen, von Desinfektionsmitteln bzw. spezifische Strukturen der SE verändernden Substanzen sowie von physikalischen Verfahren (Erhitzung, Bestrahlung).

2.2.1 Denaturierende Substanzen

Zu den eiweißdenaturierenden chemischen Stoffen zählen insbesondere Säuren, Alkalien, Aceton, Harnstoff und oberflächenaktive Stoffe (NEU-MÜLLER, 1972/1977). Die üblicherweise zum Studium der Denaturierungsvorgänge verwendeten Agentien - Harnstoff und Guanidinhydrochlorid (ATASSI, 1977) - bewirken bei den Enterotoxinen allem Anschein nach nur eine reversible Denaturierung. In Konzentrationen von meist 4 - 6 M (Guanidinhydrochlorid) bzw. 6 - 8 M (Harnstoff) eingesetzt, führen o.a. Stoffe zwar zu einer an der Zunahme der intrinsiken Viskosität ablesbaren starken Entfaltung der Tertiärstruktur, doch tritt nach Dialyse und Entfernung des Denaturierungsmittels eine baldige Rückfaltung ein, welche den nativen Zustand wiederherstellt. Gleichzeitig findet eine Restitution der biologischen bzw. serologischen Aktivität statt, die während des Denaturierungsprozesses verloren gehen kann (AVENA et al., 1967; BORJA und BERGDOLL, 1969; BORJA et al., 1972; DALIDOWICZ et al., 1966). Von AVENA et al. (1967) wird allerdings auch in Betracht gezogen, daß die serologischen Reaktionen bei Einwirkung von Harnstoff ausbleiben, weil hierdurch der Antikörper selbst oder seine Bindungskapazität beeinflußt wird. WARREN et al. (1974b) erklärten die Stabilität von SEB gegenüber Harnstoff und Guanidinhydrochlorid mit einem energetisch stark begünstigten nativen Zustand. Sie hatten nämlich entdeckt, daß zur Entfaltung (Denaturierung) eine hohe Aktivierungsenergie aufgewendet werden muß, wohingegen die Rückfaltung (nach Entfernung der denaturierenden Stoffe) nur einen minimalen Betrag an Aktivierungsenergie erfordert. Ein Vergleich der Stabilität von SEA, SEB und SEC₁ gegenüber denaturierenden Stoffen ergab (WARREN, 1977), daß die Entfaltung von SEA eine wesentlich niedrigere Aktivierungsenergie erfordert als dies für SEB bzw. SEC₁ notwendig ist. SEA wird z.B. durch 8 M Harnstoff um den Faktor 50 schneller (reversibel) denaturiert als die beiden anderen Enterotoxine, deren Entfaltung etwa gleich schnell erfolgt (bei Anwendung geringerer Harnstoffkonzentrationen läßt SEB eine etwas höhere Stabilität im Ver-

gleich zu SEC_1 erkennen). Dieses Verhalten führt WARREN auf Strukturunterschiede zwischen SEA, SEB und SEC_1 zurück. Er vermutet, daß SEA an Stellen distal der Disulfidbrücke weniger stabile β -Faltblattstrukturen besitzt als SEB und SEC_1 .

Im Gegensatz zur reversiblen Denaturierung mit Harnstoff bzw. Guanidinhydrochlorid kommt es bei sehr niedrigen bzw. hohen Wasserstoffionen-Konzentrationen - nach Zusatz von Laugen oder Säuren - zu irreversiblen Denaturierungsvorgängen. Den Untersuchungen von SCHULTE (1978) ist zu entnehmen, daß bei SEA-Kulturfiltraten nach einer Stunde bei pH-Werten von 1 - 3 bzw. 12 - 13 eine deutliche Abnahme der serologischen Aktivität festgestellt wurde (bei pH 1 Restaktivität weniger als 40%). Bei diesen Resultaten ist allerdings zu berücksichtigen, daß es sich nicht um reines SEA gehandelt hat und die Proteine des Kulturfiltrates möglicherweise einen Schutzeffekt für das SEA bedeutet haben. Hinweise auf den Einfluß der Wasserstoffionen-Konzentration auf reines SEA waren jedoch in der Literatur nicht zu finden. Reines SEB war bei Lagerung im pH-Bereich von 4 - 7,3 über eine Woche und mehr, bei pH 10 noch über mehrere Tage hinweg stabil (SCHANTZ et al., 1965). WAGMAN et al. (1965) stellten fest, daß SEB bei pH 3,8 in einen ausgedehnteren Molekülzustand übergeht, ohne an Aktivität zu verlieren. Genauere Untersuchungen von CHU (1968) ergaben dann, daß SEB zwischen pH 2,0 und 12,5 stabil und immunologisch voll aktiv war, bei Werten unterhalb von pH 1,5 bzw. oberhalb von 13,0 innerhalb von fünf Minuten aber seine immunologische Aktivität vollständig verloren hatte. CHU und BERGDOLL (1969) ergänzten diese Angaben durch den Hinweis, daß die serologische Aktivität bei pH 2,3 noch nach 12 Std. unverändert war. Von diesen Daten weichen die von HELBER (1977) bei SEB-Kulturfiltrat registrierten Werte etwas ab. So berichtet dieser Autor, daß zwar bereits bei pH 9,0 bzw. 5,5 eine leichte Reduzierung der serologischen Aktivität (innerhalb von 60 min) gegeben war, die Inaktivierung aber selbst bei pH 13,3 bzw. pH 0,1 noch nicht vollständig war. Diese Unterschiede zu den Ergebnissen mit gereinigtem SEB las-

sen sich jedoch wohl dadurch erklären, daß die im Kulturfiltrat enthaltenen Nichtenterotoxinproteine die Wirkung der Wasserstoffionen-Konzentration erheblich beeinflußt haben.

Bei SEC₁ wurde von BORJA und BERGDOLL (1969) zwischen den Beziehungen pH-Wert und serologische Aktivität bzw. biologische Aktivität unterschieden. Hinsichtlich der biologischen Aktivität zeigte sich dabei, daß zwar bei pH 11,0 keine Unterschiede zum Ausgangs-pH (7,4) gegeben waren, aber bei pH 11,5 (Einwirkungszeit: 24 Std.) eine deutliche Abnahme zu registrieren war. 24 Std. bei 5⁰C gehaltenes und auf pH 12,0 eingestelltes SEC₁ hatte seine biologische Aktivität vollständig verloren. Ähnlich waren auch die Ergebnisse bezüglich der serologischen Aktivität: sie war bei pH 11,0 (noch nach 48 Std.) unverändert, bei pH 11,2 leicht und ab pH 11,5 deutlich herabgesetzt; bei pH 12,6 war sie innerhalb von 8 Std., bei pH 13,0 innerhalb von 2 Std. verloren. Die Prüfung des pH-Effektes bei SEC₂ (AVENA und BERGDOLL, 1967) hatte erbracht, daß die serologische Aktivität nach Einstellung auf Werte zwischen pH 4,5 und 9,0 nicht angegriffen wurde, auf pH 1,85 bzw. 12,0 eingestelltes SEC₂ aber nicht mehr mit dem spezifischen Antikörper reagierte. Vergleichbare Werte wurden von BORJA et al. (1972) für die Veränderung der serologischen und biologischen Aktivität von SEE (ab pH 2,0 bzw. ab pH 12,0) beschrieben, während CHANG und BERGDOLL (1979) beobachteten, daß SED im pH-Bereich von 1,2 bis 10,7 stabil war und eine Denaturierung erst ab pH 11,2 eintrat; bei pH 12,8 war die serologische Aktivität nach dreistündiger Einwirkung vollkommen verlorengegangen.

Eine zusammenfassende Betrachtung aller dieser Versuchsergebnisse läßt den Schluß zu, daß sowohl die serologische als auch die biologische Aktivität der SE erst bei pH-Werten von etwa 2 und niedriger bzw. von etwa 12 und höher vollständig zerstört wird.

2.2.2 Hohe Temperaturen

Die auffallende Stabilität der Enterotoxine gegenüber hohen Temperaturen gilt als eines ihrer besonderen Merkmale (BERGDOLL, 1972). Zahlreiche Autoren haben sich mit der Thermostabilität der Enterotoxine beschäftigt. Die meisten dieser Veröffentlichungen sind erst vor kurzem von LOCHER (1977) und SCHULTE (1978) übersichtlich referiert und nach verschiedenen Gesichtspunkten ausgewertet worden. Infolgedessen kann in dieser Arbeit auf eine Wiederholung derartiger Übersichten verzichtet und auf die erwähnten zwei Dissertationen verwiesen werden. Hinzugefügt seien jedoch einige Arbeiten, die sich mit der Hitzestabilität von SEA bzw. SED befassen und bisher im deutschen Schrifttum nicht referiert wurden.

HUMBER et al. (1975) bestätigten, daß SEA bei niedrigem pH schneller inaktiviert wurde (Vergleich von pH 5,3 - pH 6,2 und pH 7,8). Bemerkenswerterweise entdeckten sie, daß die biologische Aktivität (Affenfütterungstest) schneller verloren ging als die serologische. (1973 hatte DANGERFIELD nämlich berichtet, daß erhitztes SEA beim Menschen erheblich toxischer war als nicht erhitztes und daraus gefolgert, daß die biologische Aktivität von SEA durch Erhitzen möglicherweise potenziert wird. Ähnliche Beobachtungen machte auch TATINI (1976) im Kätzchentest.) In späteren Versuchen gelang es BENNETT et al. (1977) jedoch nicht, zu vergleichbaren Resultaten wie HUMBER et al. zu kommen. Diese Autoren stellten vielmehr fest, daß auf 115,4°C (33 bzw. 63 min) und auf 121,6°C (21,3 bzw. 39,6 min) erhitzte und im serologischen Nachweis negative Proben noch biologisch aktiv (Kätzchentest) waren. BENNETT (1978) stellte darauf zur Diskussion, daß hitzebehandeltes SEA möglicherweise durch die mittels nativem SEA von Kaninchen gewonnenen Antikörper nicht erfaßt wird und für diesen Zweck spezifisch gegen erhitztes SEA gerichtete Antikörper erforderlich seien. CHORDASH und POTTER (1976) beobachteten, daß auf 60°C erhitztes SEA in Phosphatpuffer schneller und in größerem Umfang inaktiviert wurde als in Peptonlösung und daß eine zumindest teilweise Reaktivie-

rung des in Phosphatpuffer gelösten Toxins bei anschließender Inkubation bei 30 bzw. 37°C für 72 Std. stattfindet - wie sie z. B. von JAM-LANG et al. (1971) für SEB beschrieben wurde.

Die bisher über die Hitzestabilität von SED durch SOO et al. (1973a und b) sowie TATINI (1976) zusammengetragenen und bei LOCHER (1977) referierten Daten wurden im letzten Jahr durch den Hinweis von CHANG und BERGDOLL (1979) ergänzt, daß bei Erhitzung auf 90 bzw. 100°C über 50% der serologischen Aktivität innerhalb der ersten fünf Minuten zerstört wurden. Die serologisch bestimmten Restaktivitäten betrugen bei 90°C 35 % (nach 1 Std.) bzw. 15 % (nach 2 Std.), bei 100°C 15 % bzw. 5 %.

Aufgrund der verschiedenen Literaturangaben ist davon auszugehen, daß die Hitzestabilität der SE von einigen Faktoren erheblich beeinflußt wird. Hierzu zählen Reinheitsgrad (ungereinigte SE sind stabiler als gereinigte), Art des Erhitzungsmediums (in Pufferlösungen schnellere Inaktivierung als in proteinhaltigen Medien) und pH-Wert des Erhitzungsmediums (bei niedrigerem pH i. d. R. schnellere Inaktivierung). Fraglich ist, ob die SE-Konzentration in den für Intoxikationen wichtigen Bereichen eine wesentliche Rolle spielt. Inwieweit der serologische Enterotoxintyp die Hitzestabilität beeinflußt, ist aufgrund der Literaturangaben nicht zu entscheiden, da die Versuche zumeist unter unterschiedlichen Bedingungen angestellt wurden; nach TATINI (1976) soll SEB allerdings stabiler als SEA sein. Von praktischer Bedeutung ist, daß die höchste Inaktivierungsrate jeweils in den ersten 5 - 10 min erzielt wird und Temperaturen von ca. 70 - 80°C in den ersten Minuten zu weitaus größeren Inaktivierungsraten führen als höhere Temperaturen. In diesem Zusammenhang ist auch bemerkenswert, daß bei nicht vollständig hitzeinaktivierten Enterotoxinen im Anschluß an die Hitzebehandlung eine Reaktivierung eintreten kann.

2.2.3 Desinfektionsmittel

Von den bisher in der Literatur beschriebenen Untersuchungen über die Detoxifizierung von Staphylokokken-Enterotoxinen mit Desinfektionsmitteln sollen hier nur diejenigen referiert werden, die sich mit den auch in den eigenen Versuchen verwendeten Desinfektionsmitteln - Peressigsäure, Kaliumpermanganat und Chloramin T bzw. deren wirksamen Komponenten befassen. Über die Effektivität anderer Desinfektionsmittel wird im deutschen Schrifttum von HELBER (1977), SCHULTE (1978), TERPLAN und ZAADHOF (1974) sowie ZIETZER (1978) ausführlich berichtet.

HELBER (1977) registrierte ein vollständiges Verschwinden der serologischen Aktivität, wenn auf ungereinigtes SEB (Kulturfiltrat mit 5 µg SEB/ml) Peressigsäure (PES) in einer Endkonzentration von 0,27 % 30 min einwirkte. Kulturfiltrat mit einem Toxingehalt von 30 µg/ml wies bei der gleichen PES-Endkonzentration noch nach 60 min eine serologisch meßbare Restaktivität von 2 % auf und war erst nach 120 min vollständig detoxifiziert. Ein entsprechender Effekt war bei der nächsthöheren geprüften PES-Konzentration von 0,36 % schon nach 60 min gegeben. Bei 50 % reinem SEB (1000 µg/ml) waren trotz der erheblich höheren Toxindosis sowohl die serologische als auch die biologische - im Zellkulturtest bestimmte - Aktivität bei Einwirkung von 0,3 % PES bereits nach 30 min nicht mehr nachweisbar (ZIETZER, 1978). Zu etwas ungünstigeren Resultaten bei SEA-Kulturfiltrat (15 µg/ml) kam SCHULTE (1978), die bei der höchsten eingesetzten effektiven PES-Konzentration von 1 % nach 60 min noch eine SEA-Restaktivität von ca. 20 % ermittelte.

Mit Kaliumpermanganat (KMnO_4) gelang es, SEB- und SEA-Kulturfiltrat unter den Versuchsbedingungen vollständig zu detoxifizieren. HELBER (1977) erreichte dies innerhalb von 30 min mit 0,09 M (ca. 1,4 %) KMnO_4 bei Kulturfiltraten mit 38 µg SEB/ml, SCHULTE (1978) mit 0,75 % KMnO_4 bei Kulturfiltrat mit 15 µg SEA/ml (15 min).

Hinsichtlich der Effektivität von Chloramin T (CAT) gegenüber SEA und SEB lassen sich einige Unterschiede erkennen. Während HELBER (1977) einen vollständigen Verlust der serologischen Aktivität bei SEB-Kulturfiltrat ($10 \mu\text{g/ml}$) durch $0,001 \text{ M}$ (ca. $0,02 \%$) CAT innerhalb von 15 min registrieren konnte, gab SCHULTE (1978) an, daß bei einem SEB-Kulturfiltrat mit $8 \mu\text{g/ml}$ durch 1% CAT innerhalb von 60 min weniger als 15% der serologischen Aktivität zerstört wurden. Diese Autorin stellte allerdings bei SEA-Kulturfiltrat ($15 \mu\text{g/ml}$) ebenfalls keine erhebliche Detoxifizierungsrate fest (weniger als 50% innerhalb von 60 min durch $2,5 \%$ CAT). Offensichtlich ist jedoch auch CAT gegenüber gereinigten SE wirksamer als gegenüber ungereinigten SE: ca. 80% reines SEA ($13,75 \mu\text{g/ml}$) wurde durch 1% CAT (60 min) ebenso vollständig detoxifiziert (SCHULTE, 1978) wie ca. 50% reines SEB ($1000 \mu\text{g/ml}$) durch 5000 ppm (ca. $0,05 \%$) CAT in 120 min (ZIETZER, 1978).

Über SE-Detoxifizierungsversuche mit anderen chlorhaltigen Verbindungen haben HELBER (1977), MEYER et al. (1977), SCHULTE (1978), TERPLAN und ZAADHOF (1974) sowie ZIETZER (1978) berichtet. Dabei wiesen TERPLAN und ZAADHOF darauf hin, daß die serologische Aktivität von SEB durch Zusatz von Hypochlorit (mit $0,5 \%$ aktivem Chlor) vollständig zerstört wurde. HELBER (1977) berichtete, daß Kulturfiltrate mit $6 \mu\text{g SEB/ml}$ bereits durch 36 ppm (120 min) bzw. 45 ppm (60 min) aktiven Chlors (eingesetztes Mittel: Natriumhypochlorit) bzw. Filtrat mit $26 \mu\text{g SEB/ml}$ durch 30 ppm (120 min) bzw. 70 ppm (30 min) aktiven Chlors (eingesetztes Mittel: Calciumhypochlorit) so weit inaktiviert wurde, daß kein serologischer Nachweis mehr möglich war. MEYER et al. (1977), die Versuche zur Detoxifizierung von SEB im Wasser mit Calciumhypochlorit durchführten, zeigten dann auf, daß nach Einwirkung von 50 ppm Chlor in alkalischer Phase eine Konzentration von $50 \mu\text{g}$ ca. 20% reinem SEB/ml Trinkwasser sicher detoxifiziert (serologische und biologische - Affenfütterungstest - Aktivität) wurde, bei Einwirkung von 10 ppm Chlor aber noch geringe Restaktivitäten vorhanden waren. Bei der Aufbereitung von natürlichem mit

50 μg SEB/ml versetztem Oberflächenwasser war eine sichere Inaktivierung des Toxins nur bei Chlorkonzentrationen von über 200 ppm und zusätzlichen Verfahrensschritten (Aktivkohle-Adsorption, Flockung und Sedimentation sowie Filtration) zu erreichen. ZIETZER (1978), der mit einem höher gereinigtem (ca. 50 %) SEB und höherer SEB-Konzentration (1000 μg /ml) arbeitete, benötigte bei Verwendung von Natriumhypochlorit auch höhere Chlor-Konzentrationen (500 ppm), um innerhalb von 60 min eine vollständige Wirkung bezüglich der serologischen Aktivität zu erzielen. Die mittels Zellkulturtests gemessene biologische Aktivität war allerdings bereits bei Einsatz von 100 ppm Chlor vollständig aufgehoben.

SCHULTE (1978) prüfte anders als die zuletzt aufgeführten Autoren das Verhalten von SEA gegenüber chlorhaltigen Verbindungen und stellte dabei fest, daß die serologische Aktivität eines Kulturfiltrats mit 15 μg SEA/ml selbst durch 2500 ppm Chlor (verwendetes Desinfektionsmittel: Chlorbleichlauge) nur um ca. 15 % gemindert wurde.

Über den Einfluß o.a. Desinfektionsmittel auf die anderen SE-Typen sind zwar bislang in der Literatur keine Angaben gemacht worden, doch kann aufgrund der für SEA und SEB vorliegenden Daten davon ausgegangen werden, daß die erwähnten Verbindungen - insbesondere KMnO_4 - zur Detoxifizierung von SE gut geeignet sind. Eine Schlußfolgerung, ob Unterschiede zwischen den beiden serologischen Typen SEA und SEB hinsichtlich ihrer Stabilität bestehen, ist nicht möglich, da die Versuche unter unterschiedlichen Bedingungen durchgeführt wurden.

2.2.4 Veränderung spezifischer Enterotoxin-Strukturen durch chemische Substanzen

HABEEB (1977) faßt eine wichtige Hypothese der Proteinchemie zusammen, wenn er schreibt, daß jede - auch die geringste - Modifizierung des nativen Proteins eine mögliche Ursache für Konformationsänderungen sein kann, und daß diese wiederum Auswirkungen auf die immunochemische Reaktivität haben, selbst wenn nur solche Aminosäuren ver-

ändert werden, die nicht am antigenen Ort gelegen sind. Eine derartige Wechselwirkung zwischen Struktur und Aktivität ist auch für die Staphylokokken-Enterotoxine anzunehmen (MINOR und MARTH, 1976). Diese Vermutung ergibt sich aus zahlreichen Versuchen, die angestellt wurden, um spezifische Strukturen der Toxine so zu verändern, daß eine Eliminierung der toxischen und/oder antigenen Eigenschaften erreicht wird. Die meisten Autoren befaßten sich dabei mit SEB, da nur dieses Toxin in ausreichender Menge - auch hochgereinigt - für detaillierte Untersuchungszwecke hergestellt werden kann.

Ursprünglich ging man davon aus, daß die Disulfidbrücke (s. Abschnitt 2.1.2) keinen Einfluß auf die Aufrechterhaltung der nativen Konformation von SEB hat, da sie reduziert und anschließend mit Jodacetamid bzw. Jodacetat alkyliert werden konnte, ohne daß daraus ein Verlust der toxischen bzw. anügenen Wirkung oder eine wesentliche Konformationsänderung resultierten (DALIDOWICZ et al., 1966). Später stellten jedoch WARREN et al. (1974a) fest, daß der Disulfidbrücke gleichwohl ein gewisser stabilisierender Effekt auf die SEB-Struktur zukam, da ihre Spaltung zu einer erhöhten Flexibilität des Moleküls führte, wenn dies auch nicht eine stärkere Denaturierung bzw. einen Verlust der biologischen Wirkung zur Folge hatte.

CHU und BERGDOLL (1969) beobachteten das Ausbleiben der emetischen sowie einen starken Abfall der serologischen Aktivität von SEB, wenn sechs der acht vorhandenen Methioninreste oxidiert (H_2O_2 , pH 2,3) bzw. alkyliert (Jodessigsäure, pH 2,7) wurden. H_2O_2 bewirkte gleichzeitig eine Oxidation der Disulfidbrücke. Die Modifizierung von sechs Methioninresten brachte auch eine Konformationsänderung mit sich, der die genannten Autoren im wesentlichen den Verlust der biologischen Aktivität zuschreiben.

Eine Modifizierung der Carboxylgruppen von SEB wurde von CHU und CRARY (1969) vorgenommen. Dabei trat ein Verlust der emetischen Wirkung ein, wenn mindestens 35 der insgesamt 39 vorhandenen Carboxylgruppen mit Glyzinmethylester modifiziert wurden; dies allerdings

erst nach Denaturierung des Proteins durch 6 M Guanidinhydrochlorid. Im Gegensatz hierzu war bei alleiniger Modifizierung der 26 - 29 freien Carboxylgruppen (die auch ohne Zusatz eines denaturierenden Mittels reaktionsfähig sind) die emetische Aktivität nur in geringem Umfang vermindert, während die antigene Reaktivität schon bei Veränderung von 50 % der Carboxylgruppen erheblich verringert war. CHU et al. (1969) führten eine Substituierung der freien (ϵ -) Aminogruppen der Lysinreste mittels Acetylierung, Succinylierung bzw. Carbamylierung durch und wiesen nach, daß die erwähnten Modifizierungen - selbst nach Veränderung von 90 % der betreffenden Aminogruppen - weder die toxische noch die immunologische Aktivität des SEB beeinträchtigen konnten. Später zeigten SPERO et al. (1971), daß sogar nach Umwandlung von 31 - 32 der 33 ϵ -Aminogruppen - in diesem Fall durch Guanidinierung - die volle biologische Wirkung erhalten blieb. Daraus zogen sie den Schluß, daß die freien Aminogruppen von SEB in keiner Weise an der toxischen bzw. antigenen Funktion von SEB beteiligt sind. Nach Untersuchungen von CHU (1968) ergab sich, daß im SEB-Molekül 5 - 6 Tyrosinreste frei vorliegen, die ohne Verlust der biologischen Wirkung acetyliert bzw. nitriert werden konnten. Die übrigen 15 Tyrosinreste waren erst nach Entfaltung der Kette - in 5 M Guanidinhydrochlorid - zugänglich. Acetylierung auch dieser Gruppen zog dann einen vollständigen Verlust der Aktivität nach sich. In ähnlicher Weise verhielten sich die Tyrosinreste von SEC₁ (BORJA, 1969; BORJA und BERGDOLL, 1969). Überdies stellten die letztgenannten Autoren die Stabilität von SEC₁ gegenüber Oxidation von fünf seiner Tyrosinreste durch Tyrosinase fest. 1979 bemerkten STELMA und BERGDOLL, daß ein Lysin und sechs Histidinreste von SEA durch Bromessigsäure modifiziert werden konnten, was allerdings dem SEA weder die emetische Wirkung nahm noch zu einer Konformationsänderung führte.

Die Stabilität der Enterotoxine wird offensichtlich auch nicht von der Existenz einer intakten Peptidkette bestimmt, da ihre mit Trypsin herbeigeführte Spaltung an einer bzw. zwei Stellen - davon eine im Bereich

der Cystinschleife - weder die toxische noch die antigene Wirkung beeinträchtigte, wie SPERO et al. für SEB bzw. SEC₁ beweisen konnten (1973, 1975, 1976). Die Spaltprodukte wurden allerdings durch 4 M Guanidinhydrochlorid doppelt so schnell denaturiert wie das native Molekül.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Modifizierung leicht zugänglicher Gruppen nur einen geringen Einfluß auf die Konformation der Enterotoxine wie auch auf ihre Aktivität hatte. Erst nach vollständiger oder zumindest teilweiser Denaturierung, d.h. nach Freilegung weiterer Gruppen, war es i.d.R. möglich, die Aktivität deutlich zu senken oder gar zu eliminieren (BERGDOLL, 1970).

2.3 Eigenschaften und Wirkung von Chloramin T, Kaliumpermanganat und Peressigsäure

Um die Effizienz eines Desinfektionsmittels zur Detoxifizierung von SE beurteilen zu können, müssen - abgesehen von Grundvoraussetzungen wie einer wirksamen Konzentration bzw. ausreichender Kontaktzeit - vor allem die Abhängigkeit der Wirkung vom pH-Wert, der Temperatur sowie der Eiweißbelastung berücksichtigt werden (EGGENSPERGER, 1975; MEHLHORN, 1979; SPICHER, 1970; TRAUTWEIN und KRÜGER, 1977; WALLHÄUSSER, 1978). Des weiteren sind für die praktische Anwendung u.a. folgende Kriterien zu überprüfen: Materialverträglichkeit, Toxizität, Stabilität der Gebrauchslösungen, Wirtschaftlichkeit sowie Einsatzbereich. Im Rahmen der Trinkwasseraufbereitung sind besonders Rückstandsprobleme zu beachten.

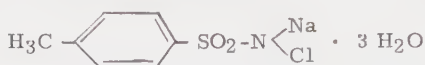
2.3.1 Wirkungsmechanismus in Abhängigkeit von pH-Wert, Temperatur und Eiweißbelastung

2.3.1.1 Chloramin T

Chloramin T (Abbildung 1) ist ein - handelsüblich als Trihydrat in kristalliner Form vorliegendes - in Wasser leicht, in organischen Lö-

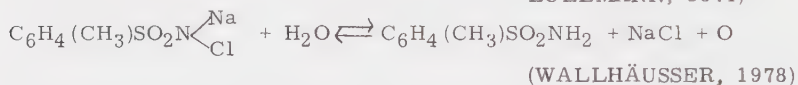
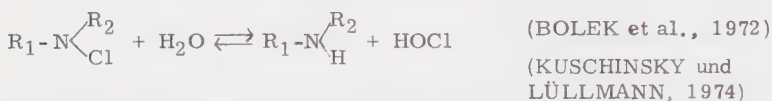
sungsmitteln nicht lösliches Desinfektionsmittel, das i.d.R. 25 % aktives Chlor enthält (NEUMÜLLER, 1972/1977).

Abbildung 1: Chloramin T - p-Toluolsulfonchloramid-Na - (WALLHÄUSSER, 1978)



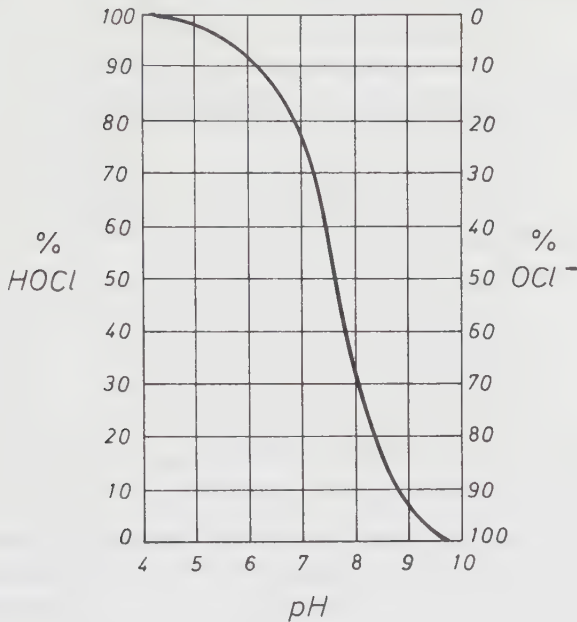
Hinsichtlich der desinfizierenden Wirkungsweise von Chloramin T (CAT) - dies gilt für alle Chlorverbindungen - werden zwei Theorien diskutiert (Abbildung 2).

Abbildung 2: Diskutierter Wirkungsmechanismus von CAT



Nach WALLHÄUSSER (1978) wird in wäßriger Lösung naszierender Sauerstoff freigesetzt; andere Autoren (BOLEK et al., 1972; DYCHDALA, 1968) führen die desinfizierende Wirkung auf das Abspalten von unterchloriger Säure zurück. Der unterchlorigen Säure werden zwei - vermutlich gemeinsam ablaufende (BOLEK et al., 1972) - Wirkungsmechanismen zugeschrieben: erstens direkte oxidierende Wirkung durch naszierenden Sauerstoff (BOLEK et al., 1972; DYCHDALA, 1968; HOLLEMANN und WIBERG, 1971) und zweitens Reaktion mit Amino- bzw. Iminogruppen von organischen Stoffen (i.d.R. Ammoniak oder Proteine) zu Chloramin- bzw. N-Chlorverbindungen (PFEIFFER, 1978). HOCl gilt nur in seiner undissoziierten Form als gut wirksames Desinfiziens (FISCHER et al., 1978; PALIN, 1975). Die Dissoziation der unterchlorigen Säure ist vom pH-Wert abhängig (Abbildung 3).

Abbildung 3: Beziehung zwischen HOCl , OCl^- und pH (DYCHDALA, 1968)



Im sauren bis neutralen Bereich liegt überwiegend undissoziiertes HOCl , im alkalischen Bereich OCl^- vor. Unterhalb von pH 4 tritt elementares Chlor auf (PALIN, 1975). Der pH-Wert reguliert neben der Dissoziation der unterchlorigen Säure ferner die Höhe des Redoxpotentials, welches einige Autoren als das bestimmende Element der bakteriziden wie viruziden Wirkung von Chlorpräparaten ansehen (CARLSON, 1970; CARLSON et al., 1976; HÄSSELBARTH, 1970). Schon 1956 hatte HEICKEN festgestellt, daß das Redoxpotential von Chloraminlösungen weitgehend unabhängig von ihrer Konzentration, d.h. von ihrem Aktivchlorgehalt war. Er fand heraus, daß im pH-Bereich 5 - 10 das Redoxpotential regelmäßig um 70 mV abnahm. Lediglich beim Wechsel der Reaktion von pH 4 nach pH 5 beobachtete er einen stärkeren Potentialsprung von minus 200 mV. Insgesamt lag das Potential von CAT in je-

dem pH-Bereich etwas niedriger als dasjenige von Chlor. Aufgrund der Normalpotentiale (Übersicht 2) nimmt die oxidierende Wirkung von HOCl über Cl_2 nach OCl^- ab (GOTTARDI, 1977).

Übersicht 2: Normalpotentiale der Redoxsysteme HOCl/Cl_2 , HOCl/Cl^- , Cl_2/Cl^- und OCl^-/Cl^- (GOTTARDI, 1977)

Redoxsystem	Normalpotential (Volt)
HOCl/Cl_2	1,63
HOCl/Cl^-	1,49
Cl_2/Cl^-	1,35
OCl^-/Cl^-	0,90

Der "Eiweißfehler" von CAT gilt - im Gegensatz zu elementarem Chlor - als gering (DYCHDALA, 1968; MEHLHORN, 1979). GOTTARDI (1976) führt dies darauf zurück, daß CAT infolge seiner Salzstruktur in wäßriger Lösung vollständig dissoziiert als negativ geladenes Ion vorliegt, das eine geringere Oxidationskraft besitzt als ein neutrales undissoziiertes Molekül. In Anwesenheit organischer stickstoffhaltiger Verbindungen wird jedoch das Redoxpotential von Chlorklösungen deutlich herabgesetzt (GOTTARDI, 1980; LUND, 1970; SPICHER, 1970).

Bezüglich des Einflusses der Temperatur ist bekannt, daß Chloramine - wie die meisten Desinfektionsmittel - bei zunehmender Temperatur an Effektivität gewinnen (HEICKEN, 1956; WALLHÄUSSER, 1978). Offensichtlich laufen chemische Desinfektionsreaktionen als Reaktion I. Ordnung ab, weshalb sich die Reaktionsgeschwindigkeits-Temperatur-Regel (van't Hoff'sche Regel) anwenden läßt, derzufolge die Reaktionsgeschwindigkeit um das Zwei- bis Dreifache ansteigt, wenn die Temperatur um 10°C angehoben wird (THIEL, 1977).

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß der pH-Wert das entscheidende Kriterium für die Wirksamkeit von CAT sowie anderer Chlorverbindungen darstellt (PALIN, 1975).

2.3.1.2 Peroxide

Kaliumpermanganat (KMnO_4) und Peressigsäure (PES) gehören zur Gruppe der Peroxide und gelten als starke Oxidationsmittel, die ihre bakterizide Wirkung durch oxidative Schädigung von Enzymen - im speziellen durch Oxidation von Sulfhydrylgruppen zu Disulfidbrücken - entfalten (EGGENSPERGER, 1975; MEHLHORN, 1979; MERKA, 1972).

Die oxidierende Wirkung von KMnO_4 ist vom pH-Wert abhängig (Übersicht 3). Im alkalischen Bereich wird KMnO_4 zu Braunstein (MnO_2), im sauren Bereich zu Mn^{2+} -Ionen reduziert. Ferner erhöht sich bei Erniedrigung des pH-Wertes um eine Einheit das Redoxpotential von KMnO_4 um etwa 100 mV (HOLLEMANN und WIBERG, 1971).

Übersicht 3: Redoxreaktionen von KMnO_4 in Abhängigkeit vom pH-Wert
(nach HOLLEMANN und WIBERG, 1971)

pH-Bereich	Redoxreaktionen	Normalpotential
alkalisch	$\text{MnO}_4^- + 2 \text{H}_2\text{O} + 3 \text{e}^- \rightleftharpoons \text{MnO}_2 + 4 \text{OH}^-$	0,57 Volt
sauer	$\text{MnO}_4^- + 8 \text{H}^+ + 5 \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Mn}^{2+} + 4 \text{H}_2\text{O}$	1,52 Volt

PES ($\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{OOH}$), die als 40%iges Konzentrat in den Handel kommt, gilt wegen ihres hohen Oxidationspotentials (MÜCKE und SPRÖSSIG, 1967a; TICHACEK, 1972) als gutes bakterizides, viruzides, aber auch sporizides Desinfektionsmittel (MROZEK, 1978; SPRÖSSIG et al., 1967; SPRÖSSIG und MÜCKE, 1968). Im Gegensatz zu KMnO_4 scheint der pH-Wert kein entscheidender Faktor zu sein. Ihm wird nur eine unterstützende Funktion zugeschrieben (SPRÖSSIG und MÜCKE, 1968; TICHACEK, 1972). PES zeigt ein von anderen Desinfektionsmitteln abweichendes Verhalten gegenüber Temperatureinflüssen: Sie hat sowohl bei Zimmertem-

peratur als auch bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt einen ausreichenden Effekt, der durch Erhöhung der Temperatur nur noch gering gesteigert werden kann (KRETZSCHMAR et al, 1972). Durch hohe Eiweißbelastung wird der mikrobizide Effekt von PES merklich reduziert (EGGENSPERGER, 1979; SPRÖSSIG et al., 1967).

2.3.2 Einige Gesichtspunkte bei der praktischen Anwendung

Das breite Wirkungsspektrum von CAT - gute Wirksamkeit gegenüber Sporen, Bakterien und Viren, noch mäßige Wirksamkeit gegenüber Mykobakterien und Pilzen (WALLHÄUSSER, 1978) - erlaubt seinen Einsatz in vielen Bereichen. Besonders hervorgehoben werden seine gute Eignung zur Oberflächen- (EGGENSPERGER, 1975; SPICHER, 1970) bzw. Händedesinfektion (GOTTARDI und PURITSCHER, 1976; SPICHER, 1970). Im Veterinärbereich kann Chloramin T in 5%iger Lösung zur Desinfektion von Ställen, Fahrzeugen, Geräten etc. benützt werden (MEHLHORN, 1979). KUSCHINSKY und LÜLLMANN (1974) empfehlen 0,05 - 0,25%ige Lösungen zur Spülung von Wunden und Schleimhäuten. Eine Zusammenstellung weiterer Einsatzmöglichkeiten findet sich in Übersicht 4.

Übersicht 4: Einige Anwendungsbeispiele für CAT (WALLHÄUSSER, 1978)

Desinfektionsgut	Empfohlene CAT-Konzentration (%)
Hände	1,5
Wäsche	3,0
Flächen	4,0
Gläser	5,0
Obst und Salat	5,0

CAT scheint sowohl Metalle als auch Kunststoffe anzugreifen (EGGENSPERGER, 1975), nicht jedoch Textilfasern (NEUMÜLLER,

1972/1977). In Pulverform und in konzentrierten Lösungen ist es gut haltbar (NEUMÜLLER, 1972/1977), auch Gebrauchslösungen sind sehr stabil (DYCHDALA, 1968). Die orale Toxizität von Chloramin T gilt im allgemeinen als gering (EGGENSPERGER, 1975), jedoch wird von MOESCHLIN (1980) erwähnt, daß es bei akzidenteller Aufnahme großer Mengen zu Bewußtlosigkeit und Kollaps, sogar zu Todesfällen - dies überwiegend bei Kleinkindern - kommen kann.

Kaliumpermanganat wird zur Zeit hauptsächlich zur Spülung von Wunden und Schleimhäuten verwendet (KUSCHINSKY und LÜLLMANN, 1974). Beachtenswert ist seine zusätzliche desodorierende Wirkung (MERKA, 1972). Gebrauchslösungen gelten als stabil, sofern sie nicht mit reduzierenden Stoffen in Berührung kommen (NEUMÜLLER, 1972/1977). Die Einsatzmöglichkeiten von KMnO_4 werden aber durch das Auftreten von störenden braunen Flecken (Braunstein) eingeschränkt, wenn höhere Konzentrationen angewendet werden. Die orale Aufnahme einer 1%-igen Lösung führt zu Magenschmerzen und Erbrechen, die einer 5%-igen Lösung zu schweren Ätzwirkungen (MOESCHLIN, 1980).

Die vielfältigen Anwendungsbereiche der Peressigsäure haben KRETZSCHMAR et al. (1972) sowie TICHACEK (1972) zusammengefaßt. Besondere Bedeutung scheint die Eignung der PES zur Händedesinfektion - in 0,2%iger Lösung - zu besitzen (MÜCKE und SPRÖSSIG, 1967a); PAZDIORA (1972) bemerkte aber, daß eine zum selben Zweck eingesetzte 0,5%ige Lösung Desquamationen der Epidermis nach sich zog. Mit 1%iger Lösung können Ställe, Fahrzeuge, Geräte etc. desinfiziert werden (MEHLHORN, 1979). Allerdings müssen beim Umgang mit Peressigsäure besondere Vorsichtsmaßnahmen ergriffen werden, da das 40%ige Konzentrat als extrem feuergefährlich gilt und toxische Dämpfe produziert (TICHACEK, 1972). Peressigsäure hat eine stark korrodierende Wirkung auf Metalle, so daß sie nur zur Desinfektion von Glas und Kunststoffen geeignet ist (TICHACEK, 1972). Durch Zusatz von Graham'schen Salz soll jedoch die Korrosion von Metallen zu verhindern sein (MEHLHORN, 1979). Verdünnte Gebrauchslösungen zer-

setzen sich relativ schnell, weshalb man diese immer frisch zubereiten sollte (MÜCKE und SPRÖSSIG, 1967b).

Die chemische Desinfektion von Trinkwasser wird heute überwiegend mit Chlor bzw. chlorhaltigen Verbindungen - meist Hypochloriten - durchgeführt (CARLSON, 1980; WEBER, 1980). CAT wird seltener verwendet, obwohl es - nicht zuletzt wegen seiner länger anhaltenden Wirkung - gleichfalls geeignet ist (CLARKE und KABLER, 1968; HÖLL, 1979). Die zur Trinkwasserdesinfektion notwendige Konzentration wird von BOLEK et al. (1972) sowie EGGENSBERGER (1975) mit 0,005 %, von WALLHÄUSSER (1978) mit 0,05 % angegeben. Um auch Viren sicher erfassen zu können, sind jedoch nach MAHNEL (1977) mehr als 1 g CAT/l anzuwenden. NEUMÜLLER (1972/1977) bezeichnet Trinkwasser mit 25 mg Chloramin T/l noch als trinkbar, während nach MAHNEL (1977) die Grenze der Genießbarkeit schon bei einem Zusatz von 10 mg/l erreicht wird.

Bei der Chlorung von Trinkwasser wird zwischen freiem wirksamen Chlor (enthalten in Cl_2 , HOCl bzw. OCl^-) und gebundenem wirksamen Chlor (enthalten in Mono-, Di- bzw. Trichloraminen) unterschieden (HÄSSELBARTH, 1968). Nach der VERORDNUNG ÜBER DEN ZUSATZ FREMDER STOFFE BEI DER AUFBEREITUNG VON TRINKWASSER - Trinkwasser-Aufbereitungs-Verordnung - (1959) ist nur ein gesamter wirksamer Chlorgehalt von 0,3 mg/l - vorübergehend auch 0,6 mg/l - zulässig, so daß gegebenenfalls erforderliche höhere Konzentrationen auf einzelne Notfälle beschränkt bleiben müssen. Ein zeitlich begrenzter Konsum von 50 bis 90 ppm aktivem Chlor im Trinkwasser verursacht keinerlei Beschwerden (BÄR, 1970), während die längerfristige Aufnahme von Chlorrückständen bzw. bei der Behandlung entstehenden organischen Chlorverbindungen (z.B. Haloforme) nicht unbedenklich zu sein scheint (PFEIFFER, 1978; WEBER, 1980).

Die Effizienz der Wasserdesinfektion mittels chlorhaltiger Verbindungen wird wesentlich durch den Grad der organischen Verunreinigung bestimmt, und zwar in der Weise, daß freies Chlor erst nach Errei-

chen des "Breachpunktes" seine mikrobizide Wirkung entfalten kann, d.h. wenn alle im Wasser vorhandenen chlorierbaren Substanzen (Ammoniak bzw. Proteine, s. Abschnitt 2.3.1.1) abgesättigt sind. Nach HEICKEN (1956) werden z.B. für 1 mg NH_3 /l 6,26 mg Chlor benötigt. Dies erklärt den erhöhten Chlorbedarf verschmutzten Wassers (WALLHÄUSSER, 1978). Eine pH-Senkung des Wassers zum Zwecke der Erniedrigung der einzusetzenden Chlor-Konzentration ist nach AXT (1970) für den Regelfall nicht ratsam, da es hierdurch zur Korrosion von Trinkwasserleitungen kommen kann.

Untersuchungen über die Eignung von Kaliumpermanganat zur Trinkwasserdesinfektion liegen nur von MAHNEL (1977) vor, der einen Zusatz von 30 mg/l - dies ist, wie er feststellte, gleichzeitig die Grenze der Genießbarkeit - als ausreichend für die Inaktivierung von Viren bezeichnet. Entsprechend der bereits erwähnten Trinkwasser-Aufbereitungsverordnung (1959) dürfen in mit KMnO_4 aufbereitetem Trinkwasser jedoch nicht mehr als 0,1 mg Kaliumpermanganat im Liter, berechnet als Mangan, einschließlich des natürlichen Mangangehalts des Wassers als Rest vorhanden sein.

Auch Peressigsäure ist bereits zur Desinfektion von Trinkwasser in einer Dosis von 1 mg/l bei 30 min Einwirkungszeit oder von 10 mg/l bei 10 min Exposition empfohlen worden (VEGER, 1967). Diese Dosen hält der Autor für unschädlich für die menschliche Gesundheit. Weitere Untersuchungen zu diesem Anwendungszweck sind nicht bekannt.

3. Eigene Untersuchungen

3.1 Detoxifizierung von Staphylokokken-Enterotoxin-Kulturfiltraten

3.1.1 Material

Für die Gewinnung von enterotoxinhaltigen Kulturfiltraten wurden die Staphylococcus aureus-Stämme S 722 (SEA), 10-275 (SEB), 137 (SEC₁) bzw. FRI 376 (SEE) eingesetzt. Die genannten Stämme wurden von Professor M.S. Bergdoll, Food Research Institute, Madison/Wis. (USA), zur Verfügung gestellt mit Ausnahme des SEB-produzierenden Stammes, der vom United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases, Frederick/Md., überlassen wurde.

Der erste Schritt zur Produktion eines Kulturfiltrates bestand in der Beimpfung einer Nährbouillon mit einer Kultur des jeweiligen Staphylococcus aureus-Stammes und einer Inkubation von ca. 24 Std. bei 37°C. Zur eigentlichen SE-Produktion wurde dann ein flüssiges Nährmedium, das in Mengen zu 600 ml (SEB) in 2 l-Erlenmeyerkolben bzw. 200 ml (SEA, SEC₁, SEE) in 2 l-Erlenmeyerkolben abgefüllt worden war, mit 5 % der frischen Staphylokokken-Vorkultur beimpft und bei 37°C im Schüttelbrutschrank (275 U/min) für 24 Std. bebrütet. Dabei kamen folgende Nährmedien zum Einsatz:

Hirn-Herz-Bouillon (Oxoid) für die Vorkultur und ein auf pH 6,8 eingestelltes Medium aus 3 % Protein Hydrolysate Powder (Mead Johnson), 3 % Pepton C/PLB aus Casein (Serva) und 0,2 % Hefeextrakt (Oxoid) für SEA (s. SCHULTE, 1978).

Medium aus 4 % Protein Hydrolysate Powder (pH 6,8) für SEB (s. HELBER, 1977 und LOCHER, 1977).

Medium aus 4 % Pepton C/PLB aus Casein und 1 % Hefeextrakt (pH 7,6) für SEC₁ und SEE (in Anlehnung an BERGDOLL et al., 1965 bzw. BERGDOLL et al., 1971; da das von diesen Autoren ursprünglich verwendete Protein Hydrolysate Powder-Medium für die eigenen Versuche nicht mehr in ausreichender Menge zur Verfügung stand, wurde obige von BERGDOLL (1979) empfohlene Modifikation gewählt).

Die Abtrennung der Staphylokokken aus dem stark getrübbten Nährme-

dium erfolgte bei allen Enterotoxinen in der gleichen Weise, nämlich durch 30minütiges Zentrifugieren der Bouillon bei 10 000 U/min in einer Kühlzentrifuge und anschließendes Sterilfiltrieren des Überstands bei einer Porengröße des Filters von 0,2 μ m. Die resultierenden Kulturfiltrate waren klar und von bernsteingelber Farbe. Ihr Enterotoxin(SE)- bzw. Proteingehalt wurde mittels Mancini-Test (MANCINI et al., 1965) bzw. Lowry-Test (LOWRY et al., 1951) bestimmt. Außerdem wurde der pH-Wert registriert (Tabelle 1). Bis zur Verwendung wurden die Kulturfiltrate in Portionen zu 100 ml eingefroren.

Tabelle 1: Enterotoxin- und Proteingehalte sowie pH-Wert der originalen Kulturfiltrate

Kulturfiltrat	SE-Konz. (μ g/ml)	Protein-Konz. (μ g/ml)	pH-Wert
SEA	14	6650	7,6
SEB	140	6000	7,4
SEC ₁	37	6340	8,2
SEE	1,7	8250	8,3

Um auch den möglichen Einfluß von SE-Konzentration sowie Eiweißbelastung auf die Wirkung der zur Detoxifizierung eingesetzten Mittel abschätzen zu können, wurden von drei Kulturfiltraten (SEA, SEB, SEC₁) Proben hergestellt, bei denen SE-Gehalt oder Proteingehalt verändert worden waren (Tabelle 2). Dies wurde durch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung, Konzentrierung gegen 50%iges Polyäthylenglykol 20 000 (Serva Nr. 33138; = Carbowax), Rekonstitution aus lyophilisiertem 60 % reinem SE oder Zugabe von Protein in Substanz (Pepton C/PLB aus Casein - Serva) erreicht. Die derart hergestellten veränderten Kulturfiltrate wurden in Mengen von 100 - 200 ml eingefroren und bis zu ihrer Verwendung bei -18°C gelagert.

Tabelle 2: Enterotoxin- und Proteingehalte der eingesetzten Kulturfiltrate

Kulturfiltrat	SE-Konz. ($\mu\text{g/ml}$)	Protein-Konz. ($\mu\text{g/ml}$)
SEA	14 ⁽¹⁾	6650
	14, 5	3600
	5, 6	6800
	5, 7	3050
SEB	140 ⁽¹⁾	6000
	140	235
	14	6000
	14	530
SEC ₁	37 ⁽¹⁾	6340
	37	1000
	4, 6	6200
	4, 4	1100
SEE ⁽²⁾	1, 7 ⁽¹⁾	8250

Erklärung:

(1) originäres Kulturfiltrat

(2) im Falle des SEE konnte nur originäres Kulturfiltrat untersucht werden, da das zum serologischen Nachweis nötige SEE-Antiserum nur in sehr begrenzter Menge zur Verfügung stand

Für die Detoxifizierung wurden aufgrund der von HELBER (1977) und ZIETZER (1978) bzw. SCHULTE (1978) beschriebenen Ergebnisse folgende Desinfektionsmittel eingesetzt: Chloramin T (Merck, Nr. 2424), Peressigsäure (Peroxidchemie, Nr. 148) sowie Kaliumpermanganat (Merck, Nr. 5082). Diese Chemikalien wurden vor jedem Versuch - in den jeweiligen Konzentrationen - durch Lösen bzw. Verdünnen mit Aqua dest. frisch angesetzt.

3.1.2 Methode

3.1.2.1 Einfluß von Chloramin T, Peressigsäure bzw. Kaliumpermanganat bei Zimmertemperatur

In den Versuchen bei Zimmertemperatur wurde geprüft, mit welchen Konzentrationen von Chloramin T (CAT), Peressigsäure (PES) bzw. Kaliumpermanganat (KMnO_4) die in Tabelle 2 aufgeführten SE-Kulturfiltrate optimal detoxifiziert werden können und in welchem Umfang die Inaktivierungsrate von der Reaktionsdauer sowie der Belastung durch organische Stoffe abhängig ist. Zu diesem Zweck wurden den Kulturfiltraten die Desinfektionsmittel (CAT: 1 %, 2 %, 5 %, 7,5 %, 10 %; PES: 0,5 %, 1 %, 2 %, 5 %; KMnO_4 : 0,1 %, 0,5 %, 0,75 %, 1 %) in solchen Mengen zugesetzt, daß das Verhältnis Kulturfiltrat zu Desinfektionsmittel 1 : 1 betrug. Um eine möglichst ideale Durchmischung zu erzielen, wurden die in Reagenzgläsern befindlichen Proben auf einen Taumler (GFL) gestellt und dort für die gesamte Reaktionszeit (10, 30 bzw. 60 min) belassen.

Auf ein "Enthemmungsmittel" als Reaktionsstopper (DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR HYGIENE UND MIKROBIOLOGIE, 1969) konnte verzichtet werden, da sich in Vorversuchen herausgestellt hatte, daß die Ergebnisse im Mancini-Test mit und ohne "Enthemmungsmittel" identisch waren. Lediglich in Versuchen mit Kaliumpermanganat wurde zu 2 Teilen Kulturfiltrat-Desinfektionsmittel-Gemisch 1 Teil 0,1 N - Natriumthiosulfat (Merck, Nr. 9147) zugegeben, um ein besseres Abzentrifugieren des sich bildenden Braunsteins zu gewährleisten. Dieser Zusatz, der bei der Berechnung der Inaktivierungsrate als Verdünnungsfaktor berücksichtigt wurde, war aber ohne störenden Einfluß auf den serologischen Nachweis. Bei Einsatz von CAT in höheren Konzentrationen (ab 5 %) traten in den Gemischen trübe Flocken auf, die sich aber nach kurzem Zentrifugieren in einer Piccolo-Zentrifuge (Heraeus Christ) gut absetzten, so daß wieder ein klarer Überstand für den serologischen Nachweis zur Verfügung stand.

Die serologische Aktivität der enterotoxinhaltigen Kulturfiltrate wurde vor dem Zusatz des Desinfektionsmittels und nach Ablauf der Reaktionszeit nach vorheriger Bestimmung des pH-Wertes quantitativ mittels Mancini-Test - jeweils vierfacher Ansatz - und qualitativ sowie semi-quantitativ mittels Ouchterlony-Test (SOMMERFELD und TERPLAN, 1975) bestimmt. Der Mancini-Test erbrachte bei Konzentrationen von $0,3 \mu\text{g SE/ml}$ noch deutlich positive Reaktionen, war aber bei geringeren SE-Mengen quantitativ nicht mehr auszuwerten. Im Ouchterlony-Test lag die Nachweisgrenze bei Konzentrationen von $1 \mu\text{g Enterotoxin/ml}$. Eine ausführliche Darstellung zur Technik und Ausführung des Mancini- bzw. Ouchterlony-Tests findet sich in den Arbeiten von HELBER (1977), LOCHER (1977) sowie SCHULTE (1978).

3.1.2.2 Einfluß von Chloramin T, Peressigsäure bzw. Kaliumpermanganat bei Erhitzung auf 50°C bzw. 70°C

Ergänzend zu den Versuchen bei Zimmertemperatur wurde geprüft, ob und inwieweit sich die Detoxifizierungsrate bei 50°C bzw. 70°C steigern läßt. Diese Bereiche wurden gewählt, weil einerseits chemische Desinfektionen häufig bei 50°C durchgeführt werden, andererseits die Inaktivierung der Enterotoxine - soweit überhaupt möglich - ohne Zusatz von Desinfektionsmittel bei 70°C i. d. R. schneller verläuft als bei höheren Temperaturen (JAMLANG et al., 1971).

Mischungen aus Desinfektionsmitteln (Konzentrationen s. Abschnitt 3.1.2.1) und Kulturfiltraten (SEA, SEB, SEC_1) - jeweils 1 ml in Reagenzgläsern - wurden in ein Schüttelwasserbad (GFL) verbracht, sobald dieses die gewünschte Temperatur (50°C oder 70°C) erreicht hatte. Nach Ende der Reaktionszeit (10, 30 bzw. 60 min) wurden die entnommenen Proben sofort abgekühlt und serologisch auf ihren SE-Gehalt geprüft (s. Abschnitt 3.1.2.1). Zur Kontrolle wurde auch die Aktivität von auf o. a. Temperaturen erhitzten, aber nicht mit dem betreffenden Desinfektionsmittel vermischten Kulturfiltraten untersucht.

3.1.2.3 Einfluß von Chloramin T bzw. Kaliumpermanganat bei unterschiedlichen pH-Werten

Da eine Reihe von Desinfektionsmitteln ihre optimale Wirkung in einem bestimmten pH-Bereich hat, der sowohl im sauren als auch alkalischen Bereich liegen kann (WALLHÄUSSER, 1978), wurde auch geprüft, ob hierdurch ebenfalls eine verbesserte detoxifizierende Wirkung der verwendeten Desinfektionsmittel zu erreichen ist. Die Gemische aus 1 ml Kulturfiltrat (SEA, SEB, SEC₁) und 1 ml Desinfektionsmittel wurden mit HCl bzw. NaOH auf pH-Werte von 3, 5 bzw. 11 eingestellt und bei Zimmertemperatur auf einem Taumler (GFL) gut vermischt (Reaktionszeiten: 10, 30 bzw. 60 min). Es wurden stets unterschiedliche Normalitäten von Salzsäure bzw. Natronlauge verwendet, um eine pH-Einstellung durch geringste Mengen zu erreichen. Die benötigten Mengen an Salzsäure bzw. Natronlauge wurden bei der Berechnung der Inaktivierungsrate als Verdünnungsfaktor berücksichtigt. Als Kontrolle liefen Kulturfiltrate (ohne Zusatz von Desinfektionsmittel) mit, deren pH ebenfalls auf 3, 5 oder 11 verändert war. Da sich in Vorversuchen gezeigt hatte, daß der serologische Nachweis (Ouchterlony- bzw. Mancini-Test) selbst durch pH-Änderungen der Proben nicht negativ beeinflusst wurde, konnte es unterbleiben, die Gemische vor der Feststellung ihrer SE-Aktivität auf den ursprünglichen pH-Wert zurückzutitrieren.

Im Falle der Peressigsäure wurde auf eine Veränderung des pH-Wertes verzichtet, da die Gemische aus Kulturfiltrat und Peressigsäure an sich schon einen stark sauren pH-Wert aufwiesen (siehe Tabelle 15).

3.1.3 Ergebnisse

3.1.3.1 Einfluß von Chloramin T auf die serologische Aktivität enterotoxinhaltiger Kulturfiltrate

3.1.3.1.1 Versuche bei Zimmertemperatur

Den originären Kulturfiltraten (SEA, SEB, SEC₁ bzw. SEE) wurde Chloramin T (CAT) in Anwendungskonzentrationen von 1, 2, 5, 7,5 bzw. 10 %

im Verhältnis 1:1 zugesetzt. Die pH-Werte der Mischungen sanken während der Reaktionszeit geringfügig ab, was auf die Bildung von unterchloriger Säure zurückzuführen ist. Die Messung der serologischen Aktivität nach 10, 30 bzw. 60 min erbrachte folgende Ergebnisse (Tabelle 3): Alle geprüften Kulturfiltrate konnten durch CAT vollständig inaktiviert werden, und zwar wurde dies nach 10 min - der kürzesten geprüften Einwirkungszeit - erreicht durch CAT-Endkonzentrationen von 3,75 % (SEB, SEC₁, SEE) bzw. 5 % (SEA). Die detoxifizierende Wirkung von CAT war in erster Linie dosisabhängig, da sich durch Verlängerung der Reaktionszeit auf 30 bzw. 60 min die schon nach 10 min erzielte Inaktivierungsrate i. d. R. nicht mehr wesentlich steigern ließ.

Die Versuche zur Detoxifizierung von SE-Kulturfiltraten, die im Toxin- und/oder Proteingehalt verändert waren, zeigten, daß bei vergleichbarer Einwirkungszeit Kulturfiltrate mit geringerer Proteinbelastung - bei konstantem Enterotoxingehalt - durch niedrigere CAT-Konzentrationen inaktiviert werden. So genügten z.B. 0,25 % CAT zur Detoxifizierung von SEB-Kulturfiltrat mit 117,5 µg Protein/ml, während ein solches mit 3000 µg Protein/ml erst durch 3,75 % CAT inaktiviert wurde - bei einer SEB-Konzentration von jeweils 70 µg/ml (s. Tabelle 8). Demgegenüber hatte die SEB-Konzentration der Kulturfiltrate - zumindest im geprüften Bereich - keinen so starken Einfluß auf die Wirkung des Desinfektionsmittels. Die Chloramin T-Endkonzentrationen, die z.B. einen vollständigen serologischen Aktivitätsverlust von SEB-Kulturfiltraten mit 3000 µg Protein/ml bewirkten, betrugen 3,75 % (70 µg SEB/ml) bzw. 2,5 % (7 µg SEB/ml). Die entsprechenden, die gleiche Tendenz aufweisenden Werte für SEA und SEC₁ können ebenfalls der Tabelle 8 entnommen werden.

Tabelle 3: Einfluß von Chloramin T auf die serologische Aktivität von SE-Kulturfiltraten bei Zimmertemperatur

SE-Typ und Endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	Protein- endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	CAT- Endkonzentrat. (%)	pH-Wert der Mischung	Restaktivität (%) nach		
				10	30	60 min
SEA 7	3325	0,5	7,7	74	72	68
		1	7,5	72	68	64
		3,75	7,4	72	67	46
		5	7,3	0	0	0
SEB 70	3000	0,5	7,6	93	90	87
		1	7,6	91	89	87
		2,5	7,6	32	17	2
		3,75	7,5	0	0	0
SEC ₁ 18,5	3170	5	7,4	0	0	0
		0,5	8,5	70	68	63
		1	8,2	66	64	59
		2,5	8,2	63	60	52
SEE 0,85	4125	3,75	8,1	0	0	0
		5	8,1	0	0	0
		0,5	8,3	84	81	75
		1	8,3	79	73	68
		2	8,2	53	47	41
		3,75	8,1	0	0	0
		5	8,0	0	0	0

3.1.3.1.2 Versuche bei 50°C bzw. 70°C

Die Detoxifizierung der SE-Kulturfiltrate mittels CAT bei 50°C bzw. 70°C ergab die in Tabelle 4 wiedergegebenen Resultate. Daraus geht hervor, daß Proben, die nach Vermischung mit CAT auf 50°C erhitzt wurden, bereits durch deutlich geringere CAT-Konzentrationen vollständig detoxifiziert wurden als bei Zimmertemperatur (Tabelle 3), nämlich nach 10 min durch 2,5 % (SEB, SEC₁) bzw. 3,75 % (SEA) gegenüber 3,75 % (SEB, SEC₁) bzw. 5 % (SEA). Die ohne Chloramin T auf 50°C erhitzten Kontrollproben hatten demgegenüber nur geringe Aktivitätsverluste zu

Tabelle 4: Einfluß von Chloramin T sowie Erhitzung auf 50°C bzw. 70°C auf die serologische Aktivität von SE-Kulturfiltraten

SE-Typ und Endkonzentration (µg/ml)	Protein- endkonzentration (µg/ml)	Temperatur	CAT- Endkonz. (%)	Restaktivität (%)		
				10	30	60 min
SEA 7	3325	50°C	1	64	43	26
			2,5	23	14	0
			3,75	0	0	0
			Kontrolle	80	73	73
		70°C	0,5	34	6	2
			1	0	0	0
			2,5	0	0	0
			Kontrolle	54	18	9
SEB 70	3000	50°C	0,5	77	69	59
			1	57	55	54
			2,5	0	0	0
			Kontrolle	...	...	95
		70°C	0,5	23	0	0
			1	0	0	0
			2,5	0	0	0
			Kontrolle	./.	./.	75
SEC ₁ 18,5	3170	50°C	1	93	82	79
			2,5	0	0	0
			3,75	0	0	0
			Kontrolle	77	75	69
		70°C	0,5	58	44	44
			1	34	5	2
			2,5	0	0	0
			Kontrolle	69	41	33

verzeichnen; selbst nach 60minütiger Erhitzung war noch eine Restaktivität von mindestens 69 % (SEC_1) nachweisbar.

Bei Erhöhung der Temperatur auf 70°C wurde die Effektivität von Chloramin T gegenüber SEA und SEB weiter gesteigert. So genügten - jeweils nach 10 min - Endkonzentrationen von 1% zur vollständigen Inaktivierung der genannten Kulturfiltrate. Im Falle des SEC_1 war hierfür zwar dieselbe Konzentration (2,5 %) wie bei 50°C erforderlich, doch war bei Erhitzung auf 70°C die Inaktivierungsrate bei Anwendung niedrigerer CAT-Konzentrationen deutlich stärker (Tabelle 4). Die Kontrollproben zeigten zwar einen größeren Aktivitätsverlust als bei 50°C , eine vollständige Inaktivierung war durch Erhitzung auf 70°C allein - selbst nach 60 min Dauer - nicht zu beobachten. Auffällig war bei diesen Proben der starke Aktivitätsabfall des SEA (54 % Restaktivität nach 10 min, 9 % nach 60 min). Bemerkenswert war ferner, daß auf 50°C bzw. 70°C erhitztes SEC_1 , dem CAT in nicht vollständig detoxifizierenden Dosen (0,5 %) zugesetzt worden war, teilweise eine etwas höhere Restaktivität als die ohne CAT erhitzten Kontrollproben aufwies (Tabelle 4).

Die Versuche an den SE-Kulturfiltraten mit niedrigeren Enterotoxin- bzw. Proteinkonzentrationen erbrachten ebenfalls, daß bei Erhitzung auf 50°C und insbesondere auf 70°C eine verbesserte Wirkung von Chloramin T gegeben war, die in niedrigeren, zur Detoxifizierung erforderlichen CAT-Konzentrationen als bei Zimmertemperatur resultierte (Tabelle 8).

3.1.3.1.3 Versuche bei unterschiedlichen pH-Werten

Die Inaktivierungsraten der auf pH 3, 5 bzw. 11 eingestellten SE-Kulturfiltrat-Chloramin T-Gemische waren bei jedem der gewählten pH-Bereiche verschieden. Bei Einstellung auf pH 3 (Tabelle 5) waren Endkonzentrationen von 1 % (SEA), 0,25 % (SEB) bzw. 0,5 % (SEC_1) ausreichend, um nach 10 min eine 100%ige Detoxifizierung zu erzielen. Ohne Veränderung des pH-Wertes war ein entsprechender Effekt erst nach

Tabelle 5: Einfluß von Chloramin T auf die serologische Aktivität von SE-Kulturfiltraten nach Einstellung der Gemische auf pH 3

SE-Typ und Endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	Protein- endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	CAT- Endkonz. (%)	Restaktivität (%) nach		
			10	30	60 min
SEA 7	3325	0,25	40	36	32
		0,5	35	32	26
		1	0	0	0
		Kontrolle	82	73	71
SEB 70	3000	0,05	100	80	77
		0,25	0	0	0
		0,5	0	0	0
		Kontrolle	94	94	85
SEC ₁ 18,5	3170	0,05	95	91	86
		0,25	62	47	39
		0,5	0	0	0
		Kontrolle	91	82	73

Anwendung höherer Endkonzentrationen - 5% (SEA) bzw. 3,75 % (SEB, SEC₁) - zu beobachten gewesen (siehe Tabelle 3). Bei pH 5 lagen die entsprechenden CAT-Endkonzentrationen - für alle SE-Kulturfiltrate 2,5 % - höher und nur um wenig niedriger als für Kulturfiltrate ohne Veränderung des pH-Wertes (Tabelle 6). Bei Einstellung auf pH 11 mußten dieselben CAT-Konzentrationen angewendet werden, die auch bei nicht verändertem pH-Wert wirksam waren (Tabelle 7).

Bei den nicht mit Chloramin T versetzten Kontrollproben konnte nur eine geringe Abnahme der Toxinaktivität - selbst nach 60minütiger Versuchsdauer - verzeichnet werden (Tabellen 5, 6 bzw. 7), so daß die zu beobachtende verbesserte Inaktivierung der SE-Kulturfiltrate bei pH 3 und 5 ausschließlich auf die höhere Effizienz von Chloramin T im sauren Bereich zurückzuführen ist.

Tabelle 6: Einfluß von Chloramin T auf die serologische Aktivität von SE-Kulturfiltraten nach Einstellung der Gemische auf pH 5

SE-Typ und Endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	Protein- endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	CAT- Endkonz. (%)	Restaktivität (%) nach		
			10	30	60 min
SEA 7	3325	0,5	77	66	50
		1	70	64	47
		2,5	0	0	0
		Kontrolle	88	88	88
SEB 70	3000	0,5	90	50	30
		1	10	8	8
		2,5	0	0	0
		Kontrolle	97	85	78
SEC ₁ 18,5	3170	0,5	87	83	83
		1	70	64	59
		2,5	0	0	0
		Kontrolle	95	95	92

Im Falle des SEB wurden auch die im Protein- bzw. Toxingehalt veränderten Chargen auf ihre Detoxifizierbarkeit bei pH 3, 5 und 11 geprüft. Dabei zeigte sich das auch für die originären SE-Kulturfiltrate geltende Verhalten gegenüber pH-Veränderungen, nämlich verbesserte Wirkung von Chloramin T bei pH 3 und 5, keine Steigerung der Effizienz bei pH 11 (Tabelle 8).

3.1.3.1.4 Vergleich der Versuchsergebnisse

Mit CAT war bei Zimmertemperatur eine vollständige Detoxifizierung aller geprüften originären SE-Kulturfiltrate (SEA, SEB, SEC₁ bzw. SEE) möglich (Tabelle 3). Die hierfür erforderlichen Endkonzentrationen (3,75 %: SEB, SEC₁ bzw. SEE; 5 %: SEA) konnten durch Änderung der Versuchsbedingungen gesenkt werden (Tabelle 8), insbesondere durch

Tabelle 7: Einfluß von Chloramin T auf die serologische Aktivität von SE-Kulturfiltraten nach Einstellung der Gemische auf pH 11

SE-Typ und Endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	Protein- endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	CAT- endkonzentration (%)	Restaktivität ($\sigma\%$) nach		
			10	30	60 min
SEA 7	3325	2,5	94	94	92
		3,75	84	77	71
		5	0	0	0
		Kontrolle	92	90	90
SEB 70	3000	1	67	66	50
		2,5	66	49	31
		3,75	0	0	0
		Kontrolle	92	92	89
SEC ₁ 18,5	3170	1	69	65	62
		2,5	64	58	52
		3,75	0	0	0
		Kontrolle	97	96	96

Einstellung der CAT-Kulturfiltrat-Gemische auf pH 3 (maximal erforderliche CAT-Konzentration: 1 %), und in etwas geringerem Umfang durch Erhitzung auf 70°C (CAT-Dosen von 1 - 2,5 %). Bei pH 5 bzw. 50°C lagen die für eine entsprechende Wirkung notwendigen CAT-Konzentrationen (2,5 % bzw. 2,5 - 3,75 %) nur wenig unter denjenigen, die bei der ursprünglichen Versuchsanordnung wirksam waren. Keine Steigerung der Wirkung von CAT war in den Versuchen nach Einstellung der Gemische auf pH 11 festzustellen (Tabelle 8). Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, daß die SE-Kulturfiltrate durch pH-Änderung bzw. Erhitzung allein die SE-Kulturfiltrate innerhalb der Versuchszeit nur teilweise detoxifiziert wurden (nach 10 min maximal 46 % - s. Tabelle 4), die registrierten Aktivitätsverluste aber anders als bei den mit CAT versetzten Proben bei den auf 50°C bzw. 70°C erhitzten Kulturfiltraten größer waren als bei den auf die vergleichbaren pH-Werte eingestellten Proben.

Tabelle 8: Für die vollständige Inaktivierung von SE-Kulturfiltraten erforderliche minimale CAT-Endkonzentration unter Berücksichtigung von Temperatureinwirkung und Ausgangs-pH der SE-CAT-Gemische (Reaktionszeit 10 min)

SE-Typ und Endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	Protein-endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	Erforderliche minimale CAT-Endkonzentration (%)					
		Zimmertemperatur				50°C	
		pH unverändert	pH 3,0	pH 5,0	pH 11,0	pH unverändert	pH unverändert
SEA 7 7,25 2,8 2,85	3325	5	1	2,5	5	3,75	1
	1800	3,75	./.	./.	./.	2,5	0,5
	3400	3,75	./.	./.	./.	2,5	1
	1525	2,5	./.	./.	./.	2,5	0,5
SEB 70 70 7 7	3000	3,75	0,25	2,5	3,75	2,5	1
	117,5	0,25	0,005	0,05	0,25	0,025	0,005
	3000	2,5	0,05	1	2,5	2,5	1
	265	0,5	0,025	0,25	0,5	0,25	0,25
SEC ₁ 18,5 18,5 2,3 2,2	3170	3,75	0,5	2,5	3,75	2,5	2,5
	500	1	./.	./.	./.	0,5	0,25
	3100	2,5	./.	./.	./.	2,5	1
	550	1	./.	./.	./.	0,5	0,25

Eine ähnliche Tendenz wie bei den originären Kulturfiltraten war hinsichtlich des Einflusses von pH-Veränderung bzw. Erhitzung bei den im Toxin- bzw. Proteingehalt veränderten SE-Kulturfiltraten festzustellen. Die Wirksamkeit von CAT war nur in geringem Maße von der SE-Konzentration abhängig, während sie mit steigendem Proteingehalt stark abnahm. Der SE-Typ hat offensichtlich keinen erheblichen Einfluß auf die Wirkung von CAT, auch wenn originäres SEA bei Zimmertemperatur etwas stabiler war als die übrigen SE-Kulturfiltrate mit vergleichbaren Proteinkonzentrationen. Im übrigen war die prozentual größte Inaktivierung stets schon nach 10 min erreicht. Durch Verlängerung der Reaktionszeit auf 30 bzw. 60 min ließ sich die Inaktivierungsrate i. d. R. nur noch wenig steigern.

3.1.3.2 Einfluß von Kaliumpermanganat auf die serologische Aktivität enterotoxinhaltiger Kulturfiltrate

3.1.3.2.1 Versuche bei Zimmertemperatur

In Vorversuchen wurde der Bereich eingegrenzt, in dem Kaliumpermanganat (KMnO_4) eine inaktivierende Wirkung auf die SE-Kulturfiltrate zeigt. Aufgrund dieser Ergebnisse wurden den Kulturfiltraten gleiche Mengen von KMnO_4 in Konzentrationen von 0,1 % - 1,5 % zugesetzt. Die pH-Werte der Mischungen, die während der Versuchsdauer von 10 - 60 min konstant blieben, bewegten sich je nach KMnO_4 -Konzentration zwischen 8,2 und 8,6. Die Kulturfiltrat- KMnO_4 -Gemische waren jedoch, bedingt durch die typische Eigenfarbe des Desinfektionsmittels, leicht violett gefärbt. Nach Abzentrifugieren unter Zusatz von Natriumthiosulfat (s. Abschnitt 3.1.2.1) konnte aber wiederum ein klarer Überstand gewonnen werden.

KMnO_4 führte bei allen geprüften SE-Kulturfiltraten (SEA, SEB, SEC_1 bzw. SEE) zu einer vollständigen Detoxifizierung (Tabelle 9). Nach 10-minütiger Reaktionszeit waren originäres SEA bzw. SEE durch 0,5 % KMnO_4 , SEB bzw. SEC_1 durch 0,75 % KMnO_4 restlos detoxifiziert. Bei den geringeren KMnO_4 -Konzentrationen erfolgte die prozentual größte

Detoxifizierung schon innerhalb der ersten 10 min; durch Verlängerung der Versuchsdauer stieg die Inaktivierungsrate nur noch gering.

Auch bei Kaliumpermanganat ist ein "Eiweißfehler" gegeben, wie sich am Vergleich zwischen originärem SEB-Kulturfiltrat mit Endkonzentrationen von 70 μg SEB/ml und 3000 μg Protein/ml und verändertem SEB-Kulturfiltrat mit 70 μg SEB/ml und 117,5 μg Protein/ml zeigte: Das SEB mit der geringeren Proteinbelastung benötigte 0,025 % KMnO_4 , originäres SEB hingegen 0,75 % KMnO_4 zur vollständigen Detoxifizierung nach 10 min. Bei den übrigen SE-Kulturfiltraten lagen vergleichbare Verhältnisse bezüglich des Einflusses der Proteinbelastung auf die Effektivität von KMnO_4 vor (Tabelle 14). Ein Einfluß der SE-Konzentration auf die Wirkung von Kaliumpermanganat bei Zimmertemperatur scheint nicht gegeben zu sein. SE-Kulturfiltrate mit verschiedenem Toxingehalt wurden - bei vergleichbarer Proteinbelastung - durchweg durch gleiche KMnO_4 -Konzentrationen inaktiviert (Tabelle 14).

Tabelle 9: Einfluß von Kaliumpermanganat auf die serologische Aktivität von SE-Kulturfiltraten bei Zimmertemperatur

SE-Typ und Endkonzentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Protein- endkonzentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	KMnO_4 - Endkonzentration (%)	pH-Wert der Mischung	Restaktivität (%) nach		
				10	30	60 min
SEA 7	3325	0,05	8,2	92	80	75
		0,25	8,4	64	55	53
		0,375	8,5	21	18	13
		0,5	8,6	0	0	0
SEB 70	3000	0,25	8,2	54	54	45
		0,5	8,4	10	3	1
		0,75	8,4	0	0	0
SEC ₁ 18,5	3170	0,05	8,4	57	40	37
		0,25	8,5	40	22	18
		0,5	8,5	12	9	4
		0,75	8,6	0	0	0
SEE 0,85	4125	0,05	8,4	82	76	73
		0,25	8,4	53	48	46
		0,5	8,6	0	0	0

3.1.3.2.2 Versuche bei 50°C bzw. 70°C

Die vollständige Detoxifizierung der originären SE-Kulturfiltrate mittels Kaliumpermanganat erforderte - wie aus Tabelle 10 ersichtlich wird - bei zusätzlicher Erhitzung der Gemische auf 50°C (Einwirkungszeit: 10 min) Konzentrationen von 0,5 % (SEA und SEC₁) bzw. 0,75 % (SEB). Infolgedessen besteht ein zusätzlicher Temperatur-bedingter Effekt nur bezüglich des SEC₁, das bei Zimmertemperatur erst durch KMnO₄-Konzentrationen von 0,75 % inaktiviert worden war (Tabelle 9). Auch von den im SE- bzw. Proteingehalt veränderten Kulturfiltraten SEA, SEB bzw. SEC₁ ließen nur die SEC₁-Proben (und zwar allein jene mit hohem Proteingehalt) eine auf die Temperatur zurückzuführende Wirkungssteigerung des Kaliumpermanganats im Vergleich zur Zimmertemperatur erkennen (Tab. 14). Wenn die Temperatur auf 70°C erhöht wurde, kam es bei einer KMnO₄-Konzentration von 0,5 % (SEB, SEC₁) bzw. sogar 0,25 % (SEA) zu einer vollständigen Detoxifizierung der originären SE-Kulturfiltrate (Tabelle 10). Auch die veränderten SE-Chargen wurden bei Erhitzung auf 70°C durchwegs durch niedrigere KMnO₄-Konzentrationen als bei Zimmertemperatur inaktiviert (Tabelle 14).

3.1.3.2.3 Versuche bei unterschiedlichen pH-Werten

Wie bei Versuchen mit Chloramin T wurde auch die Wirkung von Kaliumpermanganat in den pH-Bereichen von 3, 5 bzw. 11 geprüft. Bei Einstellung der Gemische auf pH 3 konnten die geprüften originären SE-Kulturfiltrate mit relativ geringen KMnO₄-Konzentrationen detoxifiziert werden (Tabelle 11). Diese betrugen - jeweils für vollständige Detoxifizierung nach 10minütiger Reaktionszeit - 0,2 % (SEB) bzw. 0,25 % (SEA, SEC₁). Bei pH 5 war eine vergleichbare Inaktivierung bei allen drei Kulturfiltraten ab einer KMnO₄-Konzentration von 0,5 % zu beobachten (Tabelle 12); somit war die Wirkung gegen SEB bzw. SEC₁ im Vergleich zum nicht pH-veränderten Kulturfiltrat geringfügig verbessert (Tabelle 9), nicht jedoch gegen SEA-Kulturfiltrat. Im pH-11-Be-

Tabelle 10: Einfluß von Kaliumpermanganat sowie Erhitzung auf 50°C bzw. 70°C auf die serologische Aktivität von SE-Kulturfiltraten

SE-Typ und Endkonzentration (µg/ml)	Protein- endkonzentration (µg/ml)	Temperatur	KMnO ₄ - Endkonzentrat. (%)	Restaktivität (%) nach		
				10	30	60 min
SEA 7	3325	50°C	0,05	94	74	66
			0,25	43	40	31
			0,5	0	0	0
		Kontrolle		80	73	73
		70°C	0,05	37	17	8
			0,1	17	14	5
			0,25	0	0	0
		Kontrolle		54	18	9
SEB 70	3000	50°C	0,25	58	48	48
			0,5	2	1,5	0
			0,75	0	0	0
		Kontrolle		./.	./.	95
		70°C	0,25	10	8	6
			0,5	0	0	0
			Kontrolle	./.	./.	75
SEC ₁ 18,5	3170	50°C	0,05	70	70	62
			0,25	52	50	44
			0,5	0	0	0
		Kontrolle		77	75	69
		70°C	0,05	50	28	14
			0,25	39	19	10
			0,5	0	0	0
		Kontrolle		69	41	33

reich schließlich war eine vollständige Detoxifizierung nur dann zu erreichen, wenn die KMnO₄-Konzentration 0,5 % (SEA, SEB) bzw. 0,75 % betrug (Tabelle 13). Die im Protein- bzw. SE-Gehalt veränderten Kultur-

Tabelle 11: Einfluß von KMnO_4 auf die serologische Aktivität von SE-Kulturfiltraten nach Einstellung der Gemische auf pH 3

SE-Typ und Endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	Protein- endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	KMnO_4 - Endkonzentration (%)	Restaktivität (%) nach		
			10	30	60 min
SEA 7	3325	0,05	53	50	48
		0,1	48	40	35
		0,25	0	0	0
		Kontrolle	82	73	71
SEB 70	3000	0,05	100	98	95
		0,15	25	12	10
		0,2	0	0	0
		Kontrolle	94	94	85
SEC_1 18,5	3170	0,05	70	65	58
		0,1	50	43	29
		0,25	0	0	0
		Kontrolle	91	82	73

Tabelle 12: Einfluß von KMnO_4 auf die serologische Aktivität von SE-Kulturfiltraten nach Einstellung der Gemische auf pH 5

SE-Typ und Endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	Protein- endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	KMnO_4 - Endkonzentration (%)	Restaktivität (%) nach		
			10	30	60 min
SEA 7	3325	0,05	80	75	73
		0,25	41	37	32
		0,5	0	0	0
		Kontrolle	88	88	88
SEB 70	3000	0,05	100	100	97
		0,25	18	10	7
		0,5	0	0	0
		Kontrolle	97	85	78
SEC_1 18,5	3170	0,05	92	92	74
		0,25	43	32	26
		0,5	0	0	0
		Kontrolle	95	95	92

Tabelle 13: Einfluß von KMnO_4 auf die serologische Aktivität von SE-Kulturfiltraten nach Einstellung der Gemische auf pH 11

SE-Typ und Endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	Protein- Endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	KMnO_4 - Endkonzentration (%)	Restaktivität (%) nach		
			10	30	60 min
SEA 7	3325	0,05	100	98	98
		0,25	89	85	80
		0,5	0	0	0
		Kontrolle	92	90	90
SEB 70	3000	0,05	100	100	97
		0,25	29	25	17
		0,5	0	0	0
		Kontrolle	92	92	89
SEC_1 18,5	3170	0,25	73	67	60
		0,5	38	32	28
		0,75	0	0	0
		Kontrolle	97	96	96

filtrate - untersucht wurden SEA und SEB - ließen einen vergleichbaren Einfluß des pH-Wertes auf die Wirksamkeit von KMnO_4 erkennen (Tabelle 14).

3.1.3.2.4 Vergleich der Versuchsergebnisse

Eine vollständige Detoxifizierung der originären SE-Kulturfiltrate, die bei Zimmertemperatur nach 10 min durch Zugabe von KMnO_4 in Konzentrationen von 0,5 % (SEA, SEE) bzw. 0,75 % (SEB, SEC_1) erreicht wurde (Tabelle 9), war bei zusätzlichem Erhitzen bzw. bei Absenkung des pH-Wertes der Gemische in mehreren Fällen mit niedrigeren effektiven Konzentrationen möglich (Tabelle 14). Die stärkste Wirkung hatte KMnO_4 bei pH 3 (erforderliche KMnO_4 -Konzentration: 0,2 - 0,25 %) und in etwas geringerem Umfang bei 70°C (0,25 - 0,5 %). Eine Erhitzung auf 50°C erbrachte nur bei SEC_1 eine geringe Wirkungssteigerung, während eine

Tabelle 14: Für die vollständige Inaktivierung von SE-Kulturfiltraten erforderliche minimale KMnO_4 -Endkonzentration unter Berücksichtigung von Temperatureinwirkung und Ausgangs-pH der SE-KMnO_4 -Gemische (Reaktionszeit: 10 min)

SE-Typ und Endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	Proteinendkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	Erforderliche minimale KMnO_4 -Endkonzentration (%)					
		Zimmertemperatur			pH 11,0	50°C pH unverändert	70°C pH unverändert
		pH unverändert	pH 3,0	pH 5,0			
SEA 7	3325	0,5	0,25	0,5	0,5	0,5	0,25
	1800	0,25	0,05	0,25	0,25	0,25	0,05
	3400	0,5	0,25	0,25	0,5	0,5	0,25
	1525	0,25	0,025	0,25	0,25	0,25	0,05
SEB 70	3000	0,75	0,2	0,5	0,5	0,75	0,5
	117,5	0,025	< 0,005	0,025	0,05	0,025	< 0,005
	3000	0,75	0,25	0,5	0,75	0,75	0,5
	265	0,25	0,05	0,5	0,25	0,25	< 0,005
SEC ₁ 18,5	3170	0,75	0,25	0,5	0,75	0,5	0,5
	500	0,05	./.	./.	./.	0,05	0,025
	3100	0,75	./.	./.	./.	0,5	0,5
	2,2	0,05	./.	./.	./.	0,05	0,025

Einstellung auf pH 5 bei SEB und SEC₁ Vorteile erbrachte (statt 0,75 % KMnO₄ 0,5 %). Bei Einstellung des pH-Wertes auf 11 war die Wirkung von KMnO₄ gegenüber dem nicht veränderten pH allein bei SEB verbessert (0,5 % statt 0,75%). Auch bei den im Toxin- bzw. Proteingehalt veränderten Chargen war eine Verbesserung der KMnO₄-Wirkung im allgemeinen auf eine pH-Einstellung der Gemische auf 3 bzw. eine Erhitzung auf 70°C beschränkt. Auffällig war, daß bei zwei SEB-Kulturfiltraten die Inaktivierungsrate nach Einstellung auf pH 5 bzw. pH 11 schlechter war als im originären Kulturfiltrat. Die SE-Konzentration der Kulturfiltrate hatte im Gegensatz zur Proteinkonzentration keinen eindeutigen Einfluß auf die Wirkung von KMnO₄. Ebenso ließen sich keine großen Unterschiede in der Wirkung von KMnO₄ auf die einzelnen Serotypen erkennen, auch wenn SEA vereinzelt durch geringere Desinfektionsmittelkonzentrationen zu inaktivieren war. Durch Verlängerung der Einwirkungszeit auf 30 bzw. 60 min konnte im übrigen die schon nach 10 min erzielte Inaktivierungsrate nur noch unwesentlich gesteigert werden.

3.1.3.3 Einfluß von Peressigsäure auf die serologische Aktivität enterotoxinhaltiger Kulturfiltrate

3.1.3.3.1 Versuche bei Zimmertemperatur

Peressigsäure (PES) wurde, nachdem in orientierenden Untersuchungen der wirksame Bereich festgestellt worden war, den SE-Kulturfiltraten so zugesetzt, daß die resultierenden effektiven Konzentrationen 0,25 % - 2,5 % betrugen. Die Kulturfiltrat-Peressigsäure-Gemische wiesen - abhängig von der PES-Konzentration - einen stark sauren pH-Wert auf, der während der Versuchsdauer (bis zu 60 min) konstant blieb. Auch die Peressigsäure zeigte bei Zimmertemperatur eine primär dosisabhängige Wirkung: Mit 1 % PES konnten sämtliche geprüften originären SE-Kulturfiltrate (SEA, SEB, SEC₁ bzw. SEE) nach 10 min vollständig detoxifiziert werden (Tabelle 15). Dem niedrigen pH-Wert, der bei Zusatz der voll wirksamen PES-Konzentration von 1 % bei den einzelnen SE-Kulturfiltraten zwischen 3,9 (SEA) und 4,4 (SEC₁) lag, kann diese detoxifizierende Wirkung nicht bzw. nicht allein zugeschrieben werden,

Tabelle 15: Einfluß von Peressigsäure auf die serologische Aktivität von SE-Kulturfiltraten bei Zimmertemperatur

SE-Typ und Endkonzentration (µg/ml)	Proteinendkonzentration (µg/ml)	PES-Endkonzentration (%)	pH-Wert der Mischung	Restaktivität (%) nach		
				10	30	60 min
SEA 7	3325	0,25	4,8	79	75	71
		0,5	4,6	60	57	44
		1	3,9	0	0	0
		2,5	3,4	0	0	0
SEB 70	3000	0,25	4,3	58	53	50
		0,5	4,0	25	18	10
		1	4,0	0	0	0
		2,5	3,6	0	0	0
SEC ₁ 18,5	3170	0,25	5,4	91	81	73
		0,5	4,8	67	58	50
		1	4,4	0	0	0
		2,5	3,9	0	0	0
SEE 0,85	4125	0,25	5,2	63	56	51
		0,5	4,6	35	31	23
		1	4,1	0	0	0
		2,5	3,7	0	0	0

weil die SE-Kulturfiltrate innerhalb von 10 min - wie schon in Tabelle 5 dargestellt - selbst nach Einstellung auf pH 3 (ohne Zusatz von Desinfektionsmitteln) nur Aktivitätsverluste von 6 - 18 % erfuhren.

SE-Kulturfiltrate mit niedriger Proteinbelastung benötigten durchwegs geringere PES-Konzentrationen für eine vollständige Detoxifizierung, während die Toxinkonzentration der betreffenden SE-Kulturfiltrate keinen Einfluß auf die anzuwendenden PES-Konzentrationen hatte (Tabelle 17).

Tabelle 16: Einfluß von Peressigsäure auf die serologische Aktivität von SE-Kulturfiltraten bei 50°C bzw. 70°C

SE-Typ und Endkonzentration (µg/ml)	Protein- endkonzentration (µg/ml)	Temperatur	PES- Endkonz. (%)	Restaktivität (%) nach		
				10	30	60 min
SEA 7	3325	50°C	0,05	92	89	90
			0,25	30	25	18
			0,5	0	0	0
			Kontrolle	80	73	73
		70°C	0,025	73	69	62
			0,05	68	61	53
			0,25	0	0	0
			Kontrolle	54	18	9
SEB 70	3000	50°C	0,05	44	32	25
			0,25	0	0	0
			0,5	0	0	0
			Kontrolle	./.	./.	95
		70°C	0,025	58	56	50
			0,05	0	0	0
			0,25	0	0	0
			Kontrolle	./.	./.	75
SEC ₁ 18,5	3170	50°C	0,05	81	80	72
			0,25	27	17	9
			0,5	0	0	0
			Kontrolle	77	75	69
		70°C	0,025	66	52	45
			0,05	63	50	41
			0,25	0	0	0
			Kontrolle	69	41	33

3.1.3.3.2 Versuche bei 50°C bzw. 70°C

Bei Erhöhung der Temperatur auf 50°C konnte eine vollständige Inaktivierung der geprüften SE-Kulturfiltrate (SEA, SEB, SEC₁) innerhalb von 10 min bereits durch 0,5 % (SEA, SEC₁) bzw. 0,25 % PES (SEB) erreicht werden (Tabelle 16). Damit waren im Vergleich zur Zimmertemperatur (Tabelle 15) deutlich geringere Mengen PES erforderlich. Auch die SE-Chargen mit verändertem Toxin- bzw. Proteingehalt konnten bei 50°C überwiegend durch niedrigere PES-Konzentrationen detoxifiziert werden als bei Zimmertemperatur (Tabelle 17).

Tabelle 17: Für die vollständige Inaktivierung von SE-Kulturfiltraten erforderliche minimale PES-Endkonzentration unter Berücksichtigung der Temperatur der SE-PES-Gemische (Reaktionszeit: 10 min)

SE-Typ und Endkonzentration (µg/ml)	Protein- endkonzentration (µg/ml)	erforderliche minimale PES-Endkonzentration (%)		
		Zimmer- temperatur	50°C	70°C
SEA				
7	3325	1	0,5	0,25
7,25	1800	0,5	0,25	0,025
2,8	3400	1	0,25	0,05
2,85	1525	0,5	0,25	0,025
SEB				
70	3000	1	0,25	0,05
70	117,5	0,05	0,05	0,025
7	3000	1	0,25	0,05
7	265	0,25	0,05	0,025
SEC ₁				
18,5	3170	1	0,5	0,25
18,5	500	0,25	0,25	0,05
2,3	3100	1	0,5	0,25
2,2	550	0,25	0,25	0,05

Die Erhitzung der Kulturfiltrat-Peressigsäure-Gemische auf 70°C erhöhte die Reaktionsgeschwindigkeit weiter, so daß die für die vollständige Inaktivierung der originären SE-Kulturfiltrate erforderlichen minimalen PES-Konzentrationen noch weiter sanken, nämlich auf 0,05 % (SEB) bzw. 0,025 % (SEA, SEC₁). Sämtliche im Toxin- bzw. Proteingehalt veränderten SE-Chargen ließen sich bei 70°C durch niedrigere PES-Konzentrationen als bei 50°C bzw. Zimmertemperatur inaktivieren (Tabelle 17).

3.1.3.3 Vergleich der Versuchsergebnisse

Mit 1 % PES konnten alle geprüften originären SE-Kulturfiltrate (SEA, SEB, SEC₁, SEE) bereits nach 10 min vollständig detoxifiziert werden (Tabelle 17). Durch Erhitzung der Gemische auf 50°C und besonders auf 70°C konnten die effektiven PES-Konzentrationen gesenkt werden (0,25 - 0,5 % bzw. 0,05 - 0,25 %). Auch bei den im Toxin- bzw. Proteingehalt veränderten Chargen zeigte PES nach Erhitzung auf 50°C bzw. 70°C eine verbesserte Wirkung. Der SE-Typ sowie der SE-Gehalt der Kulturfiltrate hatten nur geringen Einfluß auf die Wirkung von PES, während SE-Kulturfiltrate mit geringerer Belastung durch organische Stoffe (Protein) eine deutliche Reduzierung der für eine vollständige Detoxifizierung erforderlichen PES-Konzentrationen erlaubten. Ähnlich wie CAT und KMnO₄ zeigte auch PES eine primär dosisabhängige Wirkung, während die Verlängerung der Einwirkungszeit ohne wesentlichen Effekt war.

3.2 Detoxifizierung von SE-kontaminiertem Trinkwasser mit Chloramin T, Kaliumpermanganat, Peressigsäure bzw. Jod

In einem zweiten Abschnitt wurde in einigen Modellversuchen geprüft, inwieweit die zur Detoxifizierung von SE-Kulturfiltraten eingesetzten Desinfektionsmittel auch zur Aufbereitung mit SE-Kulturfiltraten kontaminierten Trinkwassers geeignet sind.

3.2.1 Material und Methode

Als Trinkwasser diente nicht gechlortes Münchener Leitungswasser (16,2° dH), als SE wurden Kulturfiltrate von SEA bzw. SEB verwendet. Da grobsinnlich verändertes Wasser - wenn überhaupt - nur in Notsituationen getrunken wird, wurde in Vorversuchen zuerst ermittelt, ab welchen SEB-Kulturfiltratkonzentrationen keine organoleptisch wahrnehmbaren Abweichungen (Aussehen, Geruch, Geschmack) des Trinkwassers mehr hervorgerufen werden. Dabei stellte sich heraus, daß Trinkwasser, dem pro Liter nicht mehr als 2,5 ml originären SEB-Kulturfiltrats (140 µg SEB/ml, 6000 µg Protein/ml; Tab. 1) zugesetzt wurden, sich hinsichtlich o.a. Kriterien nicht von reinem Trinkwasser mehr unterscheiden ließ (Test mit vier Personen). Daraus ergibt sich eine Konzentration von 0,35 µg SEB/ml bei einer Proteinbelastung von 15,0 µg Protein/ml. Um ungefähr vergleichbare Verhältnisse für mit SEA-Kulturfiltrat kontaminiertes Trinkwasser zu schaffen, wurde aus dem originären SEA-Kulturfiltrat (Tabelle 1) durch 24stündige Konzentrierung (siehe 3.1.1) ein konzentriertes (161 µg SEA/ml, 10 200 µg Protein/ml) produziert. Bei Zusatz von 2 ml dieses Kulturfiltrates zu 1000 ml Trinkwasser ergibt sich eine Endkonzentration von 0,32 µg SEA/ml bei einem Proteingehalt von 20,4 µg/ml. Nach Zusatz der SE-Kulturfiltrate wurde jeweils der pH-Wert bestimmt und außerdem die SE-Konzentration bzw. der Proteingehalt ermittelt.

Neben den schon zur Detoxifizierung von SE-Kulturfiltraten verwendeten Desinfektionsmitteln (Chloramin T, Kaliumpermanganat bzw. Per-

essigsäure (siehe Abschnitt 3.1.1) wurde auch Jod (Merck, Nr. 4760) getestet. Die Desinfektionsmittel wurden in Aqua dest. (Jod nur unter Zusatz von Kaliumjodid (Merck, Nr. 5040)) in solchen Mengen gelöst bzw. verdünnt, daß durch Zugabe von 1 ml zu den Trinkwasserproben folgende Endkonzentrationen erreicht wurden (jeweils mg/l): 0,1 - 0,5 - 1,0 - 2,5 - 5 - 10 - 25 - 50 - 100 - 200.

Während der Reaktionszeit (bis zu 30 min bei Zimmertemperatur) wurden die mit Desinfektionsmittel versetzten kontaminierten Trinkwasserproben mittels eines Magnetrührers (Heidolph) durchmischt. Nach 10 bzw. 30 min wurden - nach vorhergehender Bestimmung des pH-Werts - Proben entnommen und wiederum im Mancini-Test auf die serologische Aktivität geprüft. Bei Zusatz von Kaliumpermanganat und Jod wurde das Trinkwasser - zunehmend mit steigender Konzentration der Chemikalien - hellviolett bzw. hellgelb verfärbt, was aber keinen störenden Einfluß auf den serologischen Nachweis im Mancini-Test hatte.

Da sich bei den Experimenten mit den Kulturfiltraten herausgestellt hatte, daß durch Senkung des pH-Wertes eine Verbesserung der Desinfektionsmittelwirkung eintritt, wurden mit den wirksamen Desinfektionsmitteln auch Versuche zur Detoxifizierung von mit SEB kontaminiertem Trinkwasser durchgeführt, dessen pH-Wert nach Vermischung durch Zugabe von HCl auf 7,0, 6,5 bzw. 6,0 eingestellt wurde. Eine weitere Senkung war ohne Beeinträchtigung des Geschmacks nicht möglich.

Da eine Erhitzung von Trinkwasser - zumindest von großen Mengen - nicht wirtschaftlich erscheint, wurden über den Einfluß höherer Temperaturen auf die Wirkung von Kaliumpermanganat und Jod zur Detoxifizierung SEB-haltigen Trinkwassers nur orientierende Untersuchungen bei 50°C angestellt.

3.2.2 Ergebnisse

Sowohl nach SEA- wie auch nach SEB-Zugabe in den angegebenen Konzentrationen wies das Trinkwasser einen pH-Wert von 7,5 auf. Der Zusatz von CAT, KMnO_4 bzw. Jod bewirkte nur einen geringen Anstieg des

pH-Wertes (bei den höchsten eingesetzten Konzentrationen von 200 mg/l maximal 7,8). Durch Zusatz von Peressigsäure wurde der pH-Wert des Trinkwassers gesenkt, und zwar bis auf maximal 5,2 (200 mg PES/l). Der pH-Wert der mit den betreffenden Desinfektionsmitteln versetzten SE-kontaminierten Trinkwasserproben blieb im allgemeinen während der Reaktionszeit konstant; lediglich bei Zusatz von Chloramin T trat ein - wenn auch geringer - Abfall auf. Die Messung der serologischen Aktivität nach 10- bzw. 30minütiger Einwirkung der Desinfektionsmittel erbrachte die in Tabelle 18 wiedergegebenen Ergebnisse.

Tabelle 18: Für eine vollständige Inaktivierung in Trinkwasser organoleptisch nicht wahrnehmbarer SEA- bzw. SEB-Kulturfiltratmengen erforderliche Mindestkonzentrationen ausgewählter Desinfektionsmittel bei Zimmertemperatur (Reaktionszeit: 10 min)

SE-Typ und Endkonzentration (µg/ml)	Proteinendkonzentration (µg/ml)	Art des Desinfektionsmittels und Konzentration (mg/l)			
		CAT	KMnO ₄	PES	Jod
SEA 0,32	20,4	>200	25	>200	25
SEB 0,35	15,0	>200	50	>200	50

Mit Chloramin T und Peressigsäure konnte - selbst mit der höchsten eingesetzten Konzentration (200 mg/l) - SEA- bzw. SEB-haltiges Trinkwasser nach 10 min nicht detoxifiziert werden. Dies war auch bei 30minütiger Einwirkungszeit nicht der Fall. Kaliumpermanganat und Jod zerstörten die Aktivität von SEA bzw. SEB ab Konzentrationen von 25 mg/l (SEA) bzw. 50 mg/l (SEB) so weitgehend, daß serologisch kein Enterotoxin nachzuweisen war. Beide Desinfektionsmittel zeigten eine ausschließlich dosisabhängige Wirkung, da durch Verlängerung der Reaktionszeit um das Dreifache keine Reduzierung der wirksamen Mindestkonzentrationen möglich war.

Bei zusätzlicher Senkung des pH-Wertes des mit Kaliumpermanganat bzw. Jod versetzten, kontaminierten Trinkwassers von 7,5 auf 7,0, 6,5 bzw. 6,0 war das im Trinkwasser enthaltene SEB bereits durch geringere KMnO_4 -Konzentrationen (10-25 mg/l) vollständig zu detoxifizieren (Tabelle 19); beim Jod konnte demgegenüber - zumindest im geprüften pH-Bereich - keine Wirkungssteigerung registriert werden.

Tabelle 19: Für eine vollständige Inaktivierung in Trinkwasser organoleptisch nicht wahrnehmbarer SEB-Kulturfiltratmengen erforderliche Mindestkonzentration ausgewählter Desinfektionsmittel unter Berücksichtigung des Ausgangs-pH des Trinkwassers (Reaktionszeit: 10 min)

SE-Typ und Endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	Protein-endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	pH-Wert des Trinkwassers	Art des Desinfektionsmittels und Konzentration (mg/l)	
			Jod	KMnO_4
SEB 0,35	15,0	7,5 ⁽¹⁾	50	50
		7,0	50	25
		6,5	50	25
		6,0	50	10

(1) unveränderter pH-Wert des SEB-haltigen Trinkwassers

Eine Erhitzung des mit SEB kontaminierten und mit KMnO_4 bzw. Jod versetzten Trinkwassers auf 50°C erbrachte keine Hinweise auf eine verbesserte Wirkung der Desinfektionsmittel. Die für die vollständige Detoxifizierung von SEB erforderlichen Wirkstoffmengen unterscheiden sich nicht von jenen, die bei Zimmertemperatur voll wirksam waren (Tabelle 20).

Tabelle 20: Für eine vollständige Inaktivierung in Trinkwasser organoleptisch nicht wahrnehmbarer SEB-Kulturfiltratmengen erforderliche Mindestkonzentrationen ausgewählter Desinfektionsmittel unter Berücksichtigung der Temperatur des Trinkwassers (Reaktionszeit: 10 min)

SE-Typ und Endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	Protein- endkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	Temperatur des Trinkwassers	Art des Desinfektions- mittels und Konzentration (mg/l)	
			Jod	KMnO_4
SEB 0,35	15,0	Zimmer- temperatur	50	50
		50°C	50	50

4. Besprechung der Ergebnisse und Diskussion

Koagulase-positive Staphylokokken sind neben Salmonellen und Clostridium perfringens die häufigsten Erreger mikrobiell bedingter Lebensmittelvergiftungen. Verantwortlich dafür sind solche Staphylococcus aureus-Stämme, die auf den Verdauungskanal wirkende, als Enterotoxine bezeichnete Gifte produzieren. (Von den bisher bekannten, sich serologisch unterscheidenden Enterotoxintypen A, B, C, D, E und F ist bei Lebensmittelvergiftungen hauptsächlich der Typ A beteiligt). Derartige Staphylokokken-Intoxikationen verlaufen i. d. R. zwar relativ harmlos - Hauptsymptome sind Erbrechen und meist auch Durchfall, die innerhalb von zwei bis sechs Stunden nach Verzehr enterotoxinhaltiger Lebensmittel auftreten - doch sind, abhängig von der individuellen Konstitution, auch schwerwiegendere Krankheitserscheinungen und vereinzelt sogar Todesfälle beobachtet worden (ZAADHOF, 1980). Die übliche Diagnostik der Staphylokokken-Intoxikation erfolgt durch serologischen Nachweis der Enterotoxine, wozu spezifische Antigene und Antikörper benötigt werden, die in aufwendigen Reinigungsprozessen gewonnen werden müssen. Hierdurch - wie aber auch durch experimentelle Arbeiten im Rahmen sonstiger Enterotoxinforschungen - ist die Möglichkeit der Kontamination von Laborräumen, Arbeitsplätzen, Geräten, Glaswaren u. ä. und davon ausgehend die Gefahr der Ansteckung des Laborpersonals gegeben. Geeignete Verfahren zur Dekontamination sind daher notwendig, um das Risiko einer Erkrankung zu verringern. Unter Umständen können solche Maßnahmen auch geeignet sein, kontaminierte Lebensmittel bzw. kontaminiertes Trinkwasser für den menschlichen Genuß wieder nutzbar zu machen.

In früheren Untersuchungen, die im Institut durchgeführt wurden, hatte sich insbesondere der Zusatz einiger sonst zur Desinfektion eingesetzter Substanzen als praktikable Methode zur Detoxifizierung von Staphylokokken-Enterotoxin A (SEA) bzw. Staphylokokken-Enterotoxin B (SEB) erwiesen (HÜLBER, 1977; LOCHER, 1977; SCHULTE, 1978;

TERPLAN und ZAADHOF, 1974; ZIETZER, 1978). In Fortführung dieser Untersuchungen war es das Ziel der eigenen Versuche, die optimalen Bedingungen für die Detoxifizierung nicht nur von SEA und SEB, sondern auch von Staphylokokken-Enterotoxin C₁ (SEC₁) sowie orientierend von Staphylokokken-Enterotoxin E (SEE) mit Chloramin T (CAT), Kaliumpermanganat (KMnO₄) und Peressigsäure (PES) - Desinfektionsmittel, deren Effekt auf der Oxidation von Proteinen beruht (EGGENSPERGER, 1975) - festzustellen. Als Enterotoxine (SE) dienten Kulturfiltrate enterotoxinbildender Stämme, weil einerseits unter Praxisbedingungen eher eine Kontamination mit ungereinigtem als mit reinem SE zu erwarten ist und andererseits Rohenterotoxinen i. d. R. eine höhere Stabilität als reinen bzw. hochgereinigten SE zugeschrieben wird (READ und BRADSHAW, 1966; SATTERLEE und KRAFT, 1969; TATINI, 1976; s. auch LOCHER, 1977 bzw. ZIETZER, 1978). Für die Herstellung dieser Kulturfiltrate wurden jeweils Stämme eingesetzt, die nur den betreffenden SE-Typ bildeten. Dabei ergaben sich für die verschiedenen Typen recht unterschiedliche SE-Konzentrationen/ml Kulturfiltrat: 140 µg (SEB), 37 µg (SEC₁), 14 µg (SEA) bzw. 1,7 µg (SEE). Dies entspricht jedoch den natürlichen Verhältnissen. Bereits KATO et al. (1966) sowie REISER und WEISS (1969) hatten nämlich darauf hingewiesen, daß die größten SE-Mengen von SEB-Bildern produziert werden und SEA-Bildner deutlich geringere Mengen Enterotoxin als SEB-Bildner bzw. SEC-Bildner produzieren. Da für die Versuche die originären Kulturfiltrate und Desinfektionsmittel im Verhältnis von 1 : 1 gemischt wurden, beliefen sich die SE-Endkonzentrationen somit auf 70 µg/ml (SEB), 18,5 µg (SEC₁), 7 µg (SEA) bzw. 0,85 µg (SEE). Als Maßstab für die Wirkung des Desinfektionsmittels diente die Inaktivierungsrate der serologischen Aktivität der SE. Bei negativem Ausfall des Mancini-Tests (SE-Konzentrationen < 0,3 µg/ml) nach Ablauf der Reaktionszeit (10, 30 bzw. 60 min) wurde von einer vollständigen Detoxifizierung des betreffenden SE ausgegangen. Um auch den Einfluß der SE-Konzentration und der organischen Begleitstoffe auf die

Wirkung o.a. Desinfektionsmittel abschätzen zu können, wurden die originären SE-Kulturfiltrate außerdem so verändert, daß einmal Chargen mit hohem und niedrigem Proteingehalt bei gleicher SE-Konzentration, zum anderen aber solche mit unterschiedlichen SE-Gehalten bei vergleichbaren Proteinkonzentrationen resultierten. Der Einfluß der drei Desinfektionsmittel auf die serologische Aktivität der genannten SE-Kulturfiltrate wurde zuerst bei Zimmertemperatur getestet; ergänzend dazu wurde dann geprüft, ob und inwieweit sich die Detoxifizierungsrate bei 50°C bzw. 70°C steigern läßt. Diese Bereiche wurden gewählt, weil einerseits chemische Desinfektionen häufig bei 50°C durchgeführt werden, andererseits die hitzebedingte Inaktivierung der Enterotoxine bei 70°C schneller verlaufen soll als bei höheren Temperaturen (JAMLANG et al., 1971; LOCHER, 1977; SCHULTE, 1978; SOO et al., 1973a und b). Da eine Reihe von Desinfektionsmitteln ihre optimale Wirkung in einem bestimmten pH-Bereich hat, der im sauren oder alkalischen Bereich liegen kann (WALLHÄUSSER, 1978), wurde auch geprüft, ob durch Einstellung der Kulturfiltrat-Desinfektionsmittel-Gemische auf pH 3, pH 5 bzw. pH 11 ebenfalls eine verbesserte detoxifizierende Wirkung der verwendeten Desinfektionsmittel zu erreichen ist. In einem zweiten Versuchsabschnitt wurde dann in einigen Modellversuchen geprüft, inwieweit die zuvor zur Detoxifizierung der SE eingesetzten Desinfektionsmittel sowie das von einigen Autoren (CHANG und MORRIS, 1953; CLARKE und KABLER, 1968; MAHNEL, 1977) zur Desinfektion von Trinkwasser empfohlene Jod auch zur Aufbereitung mit SE-Kulturfiltraten kontaminierten Trinkwassers geeignet sind.

Chloramin T erwies sich bei Zimmertemperatur gegenüber allen getesteten SE-Kulturfiltraten als voll wirksam, doch mußten bei den originären Kulturfiltraten (Proteingehalt: 3000 - 4125 µg/ml) relativ hohe effektive Konzentrationen - 5 % bei SEA bzw. 3,75 % bei SEB, SEC₁ und SEE - eingesetzt werden, um eine vollständige Detoxifizierung nach 10 min zu erreichen. Aus den ergänzenden Versuchen mit Kulturfiltraten niedrigeren Proteingehaltes (117,5 - 1800 µg/ml), bei denen eine

vollständige Detoxifizierung bei deutlich geringeren CAT-Konzentrationen zu erzielen war (Tab. 8), geht hervor, daß die im Kulturfiltrat vorhandenen organischen Begleitstoffe - z.B. aus dem Nährmedium stammende Proteine - einen wesentlichen Einfluß auf die detoxifizierende Wirkung von CAT ausübten. Dieser auch als Chlorzehrung bezeichnete Effekt ist durch Adsorptionseffekte, aber auch chemische Umsetzungen bedingt (WALLHÄUSSER, 1978). Im Gegensatz dazu wurde die Effektivität von CAT durch die SE-Konzentration in den getesteten Bereichen (0,85 - 70 $\mu\text{g}/\text{ml}$) nicht oder nur unwesentlich beeinflusst, so daß auch bei Stämmen mit geringerem Enterotoxinbildungsvermögen die zur vollständigen Detoxifizierung von SE-Kulturfiltraten benötigten CAT-Konzentrationen nicht gesenkt werden können. Ein Vergleich der eigenen Ergebnisse mit jenen anderer Autoren ist nur bezüglich der Typen SEA und SEB möglich. So hatte HELBER (1977) bei SEB-Kulturfiltrat mit 10 μg SEB/ml eine vollständige Inaktivierung nach 15 min durch 0,001 M (ca. 0,02 %) CAT beschrieben, während ein Kulturfiltrat mit 41 μg SEB/ml durch 0,1 M CAT (ca. 2 %) innerhalb dieser Zeit nicht vollständig inaktiviert wurde. SCHULTE (1978) registrierte nur eine teilweise Detoxifizierung von Kulturfiltraten mit 15 bzw. 1,5 μg SEA/ml bei CAT-Konzentrationen von 2,5 %. Höhere CAT-Konzentrationen wurden von der letztgenannten Autorin nicht eingesetzt. Während somit eine Übereinstimmung hinsichtlich der CAT-bedingten Inaktivierung von originärem SEA-Kulturfiltrat gegeben ist, bestehen hinsichtlich der von HELBER bezüglich des SEB-Kulturfiltrates berichteten Ergebnisse doch deutliche Unterschiede. In den eigenen Versuchen gelang nämlich selbst bei einem verdünnten Kulturfiltrat (7 μg SEB und 265 μg Protein/ml) eine vollständige Detoxifizierung nur bei Mindestkonzentrationen von 0,5 % CAT. Da aber in der Arbeit von HELBER keine Angaben über den Proteingehalt der Kulturfiltrate enthalten sind, ist nicht auszuschließen, daß sich die Ergebnisse auf Kulturfiltrate mit deutlich geringerer organischer Belastung beziehen. Hierfür spricht auch das von HELBER gewählte Mischungsverhältnis Desinfektionsmittel : Kulturfiltrat von 9:1. Die von HELBER (1977) sowie SCHULTE (1978) vermute-

te Beziehung zwischen SE-Konzentration und für eine vollständige Detoxifizierung erforderliche CAT-Konzentration konnte - wie bereits dargestellt - nicht bestätigt werden. Da aber von beiden Autoren der Einfluß der Proteinkonzentration der Kulturfiltrate auf den Detoxifizierungseffekt nicht geprüft wurde, ist anzunehmen, daß der von ihnen beobachtete Effekt nur indirekt mit dem SE-Gehalt, direkt aber mit dem Proteingehalt der Kulturfiltrate in Zusammenhang stand.

In den Versuchen, die mit Erhitzung der Kulturfiltrat-Chloramin T-Gemische auf 50°C bzw. 70°C durchgeführt wurden, ließ sich eine verbesserte Wirksamkeit von CAT bei höheren Temperaturen erkennen, wie sie auch von HEICKEN (1956) sowie WALLHÄUSSER (1978) für den mikrobiziden Bereich beschrieben wurde. Dies traf insbesondere für die höhere der beiden angegebenen Temperaturen zu, bei der bei gleicher Reaktionszeit wie bei Zimmertemperatur (10 min) statt 5 % nur 1 % CAT (SEA) und statt 3,75 % nur 2,5 % (SEC₁) bzw. 1 % CAT (SEB) für eine vollständige Detoxifizierung der Kulturfiltrate erforderlich waren. Bei 50°C war die Wirkungssteigerung von CAT gegenüber Zimmertemperatur zwar weniger stark ausgeprägt, aber dennoch deutlich sichtbar (voll wirksame CAT-Konzentrationen; 3,75 % bei SEA; 2,5 % bei SEB und SEC₁). Auch bei den im Protein- bzw. Enterotoxingehalt veränderten Proben konnten entsprechende temperaturbedingte Einflüsse registriert werden. Durch Erhitzung allein waren die SE-Kulturfiltrate nur teilweise inaktivierbar, am stärksten noch SEA (Restaktivität nach 10 min bei 70°C 54 %, bei 50°C 80 %). Auf die geringere Hitzestabilität von SEA hatte im übrigen auch schon TATINI (1976) hingewiesen. Eine andere Möglichkeit, die detoxifizierende Wirkung von CAT zu steigern, ist offensichtlich eine Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration durch Zusatz von Säure, nicht aber Lauge. So konnte durch Einstellung des pH-Wertes der SE-Kulturfiltrat-CAT-Gemische (der originär im Bereich von 7,6 bis 8,5 lag) auf pH 3 die für eine vollständige Inaktivierung notwendige CAT-Konzentration i.d.R. noch stärker als bei Erhitzung auf 70°C gesenkt werden, nämlich auf 1 % (SEA), 0,5 % (SEC₁) bzw.

0,25 % (SEB). Bei Senkung des pH-Wertes auf 5 war bei SEB und SEC_1 der gleiche wirkungsverbessernde Effekt wie bei Erhitzung auf $50^{\circ}C$ gegeben, bei SEA ein noch etwas besserer (2,5 % CAT statt 3,75% wie bei Erhitzung auf $50^{\circ}C$). Demgegenüber erbrachte eine Einstellung auf pH 11 - erwartungsgemäß - keinerlei Vorteile im Vergleich zu den originären Kulturfiltraten. Da die pH-Einstellung allein - wie auch schon HELBER (1977) und SCHULTE (1978) bei Kulturfiltraten beschrieben - nur zu unbedeutenden Inaktivierungsraten führte (bei SEB und SEC_1 3 - 10 %, bei SEA 8 - 18 %), ist die Schlußfolgerung zulässig, daß die SE-Detoxifizierung mit CAT im sauren Bereich rascher verläuft als im neutralen bzw. alkalischen Bereich. Dies läßt sich vermutlich ähnlich wie bei der Chlordesinfektion darauf zurückführen, daß CAT im sauren Bereich einen größeren Anteil an undissoziierter - stärker wirksamer (PALIN, 1975) - $HOCl$ abspaltet (DYCHDALA, 1968) und eine wesentliche Erhöhung des von einigen Autoren als bestimmendes Element für die Wirkung von Chlor (CARLSON, 1980; CARLSON et al., 1976; HÄSELBARTH, 1970; LUND, 1970) angesehenen Redoxpotentials erfährt (HEICKEN, 1956).

Bei allen Versuchsbedingungen war im übrigen bei nicht zur vollständigen Detoxifizierung ausreichenden CAT-Konzentrationen die prozentual größte Reduzierung der Enterotoxinaktivität schon nach 10 min erreicht; eine Verlängerung der Reaktionszeit auf 30 bzw. 60 min brachte i. a. nur eine unwesentliche Steigerung. Ähnliches hatten schon HELBER (1977) sowie SCHULTE (1978) für den Einfluß von CAT auf SEA- und SEB-Kulturfiltrat (bei Zimmertemperatur) beschrieben.

Die beiden Desinfektionsmittel aus der Gruppe der Peroxide - Kaliumpermanganat und Peressigsäure - erwiesen sich gleichfalls als gut geeignet zur Detoxifizierung von SE-Kulturfiltraten - dies sogar in bedeutend niedrigeren Konzentrationen als Chloramin T. Nach 10 min - der kürzesten geprüften Einwirkzeit - waren SEA bzw. SEE durch 0,5 % und SEB bzw. SEC_1 durch 0,75 % effektives $KMnO_4$ vollständig detoxifiziert. Die für denselben Zweck aufzuwendende Peressigsäure-Konzentration

betrug bei allen SE-Kulturfiltraten 1 %. Die von HELBER (1977) sowie SCHULTE (1978) in entsprechenden Versuchen mit SEA- bzw. SEB-Kulturfiltrat erzielten Ergebnisse sind in der Tabelle 21 zusammengefaßt.

Tabelle 21: Einfluß von KMnO_4 bzw. PES auf die serologische Aktivität von SEA- und SEB-Kulturfiltrat (HELBER, 1977; SCHULTE, 1978)

SE-Typ und End- konzentrat. ($\mu\text{g/ml}$)	KMnO_4 (%)	PES (%)	Einwir- kungs- zeit (min)	Restak- tivität (%)	Autor
SEA					
15	0,75	./.	15	0	SCHULTE (1978)
1,5	0,75	./.	15	0	"
15	./.	1	30	29	"
1,5	./.	0,5	30	64	"
SEB					
38	ca.1,4	./.	30	0	HELBER (1977)
4,5	ca.1,4	./.	30	0	"
30	./.	0,27	120	0	"
30	./.	0,36	60	0	"
5	./.	0,27	30	0	"

Die geringen Unterschiede zu den eigenen Ergebnissen dürften in erster Linie auf Differenzen im Proteingehalt der jeweils eingesetzten Kulturfiltrate zurückzuführen sein. Hierzu finden sich in den genannten Publikationen jedoch keine Angaben. Daß Peroxide mit allen Proteinen reagieren (EGGENSPERGER, 1975) und die Belastung mit organischen Stoffen für die Wirkung von KMnO_4 sowie PES von erheblichem Einfluß ist, zeigte sich auch bei der Detoxifizierung von SE-Chargen mit niedrigem Proteingehalt. In diesen Fällen genügten deutlich geringere Kon-

zentrationen zur vollständigen Inaktivierung als bei den originären SE-Kulturfiltraten. Eine Abhängigkeit von der Toxinkonzentration scheint jedoch ähnlich wie bei CAT weder bei der Wirkung von Kaliumpermanganat noch bei der von Peressigsäure gegeben zu sein.

Kaliumpermanganat wies bei Erhitzung auf 50°C zwar eine geringfügige gesteigerte Reaktionsgeschwindigkeit auf, doch konnten die SE-Kulturfiltrate in diesem Temperaturbereich i. d. R. nur durch diejenigen Konzentrationen restlos detoxifiziert werden, die auch bei Zimmertemperatur voll wirksam waren. Im Gegensatz dazu waren bei PES geringere Mengen (SEA und SEC₁: 0,5 %; SEB: 0,25 %) für den gleichen Zweck notwendig. Auffällig war in diesem Zusammenhang, daß bei SEC₁-Kulturfiltraten mit hoher organischer Belastung sowohl bei PES als auch bei KMnO₄ eine Reduktion der für eine vollständige Inaktivierung notwendigen Mindestkonzentration zu beobachten war, nicht aber bei den Kulturfiltraten mit geringem Proteingehalt. Bei 70°C konnten die zur Inaktivierung erforderlichen, gegenüber den bei Zimmertemperatur wirksamen Konzentrationen bei beiden Peroxiden deutlich reduziert werden (KMnO₄: 0,25 - 0,5 %, PES: 0,05 - 0,25 %). Wie sich in den eigenen Versuchen herausstellte, läßt somit Peressigsäure bei höheren Temperaturen eine Steigerung der SE-detoxifizierenden Wirkung erkennen, obwohl die bakterizide Wirkung nach Angaben von KRETZSCHMAR et al. (1972) dadurch nicht verbessert wird. Aufgrund der wenig verringerten serologischen Aktivitäten der nur im pH veränderten SE-Kulturfiltrate war die insbesondere bei pH 3 verbesserte Wirkung von Kaliumpermanganat (die für eine vollständige Detoxifizierung erforderlichen Konzentrationen waren teilweise niedriger als bei Erhitzung auf 70°C) in erster Linie auf das höhere Redoxpotential im sauren Bereich zurückzuführen (HOLLEMANN und WIBERG, 1971). Die sauren pH-Werte der originären Peressigsäure-Kulturfiltrat-Gemische (zwischen 3,4 und 5,4) hatten keinen eigenen Einfluß auf die detoxifizierende Wirkung. Im übrigen wird dem sauren pH-Wert der Peressigsäure auch bei Anwendung zur Desinfektion nur unterstützende Funktion zugeschrieben (SPRÖSSIG und MÜCKE,

1968; TICHACEK, 1972). Daher wurde in den eigenen Versuchen auf eine Veränderung des pH-Wertes der Kulturfiltrat-PES-Gemische verzichtet. Eine weitere Parallele zur SE-Detoxifizierung mit CAT ergab sich für KMnO_4 und PES im übrigen insofern, als die SE-inaktivierende Wirkung dieser Desinfektionsmittel primär dosisabhängig war und eine wesentliche Verbesserung der Wirkung durch Verlängerung der Reaktionszeit von 10 auf 30 bzw. 60 min nicht zu erzielen war.

Der zusammenfassende Vergleich der mit CAT, KMnO_4 bzw. PES erzielten Resultate zeigt, daß sich alle geprüften originären Kulturfiltrate innerhalb von 10 min (der kürzesten geprüften Einwirkungszeit) durch die drei Desinfektionsmittel vollständig detoxifizieren ließen. Allerdings bestanden deutliche Unterschiede hinsichtlich der für diesen Zweck erforderlichen Anwendungskonzentrationen zwischen CAT einerseits und den beiden Peroxiden andererseits (Tabelle 22); die geringsten Desinfektionsmittel-Konzentrationen waren - zumindest bei den Versuchen bei Zimmertemperatur - bei Verwendung von KMnO_4 erforderlich. Zu in der Tendenz ähnlichen Resultaten bezüglich der Effektivität dieser drei Desinfektionsmittel war auch SCHULTE (1978) für SEA-Kulturfiltrat gekommen. Die Resultate von HELBER (1977), der zur Detoxifizierung von SEB-Kulturfiltrat zwar wiederum bei CAT die höchsten, aber bei PES - und nicht KMnO_4 - die niedrigsten Konzentrationen einsetzen mußte, sind nur bedingt vergleichbar, da für die Versuche unterschiedliche Kulturfiltrate mit verschiedenen SEB-Konzentrationen herangezogen wurden. Alle drei Desinfektionsmittel ließen im übrigen keine wesentliche Verbesserung ihrer Wirkung erkennen, wenn die Reaktionszeit von 10 auf 30 bzw. 60 min verlängert wurde. Innerhalb dieses Zeitraums ist somit keine Senkung der in Tabelle 22 angegebenen notwendigen minimalen Desinfektionsmittelkonzentrationen möglich. Von erheblicher Bedeutung ist die bei den eigenen Versuchen gemachte Beobachtung, daß nach Ansäuerung der Kulturfiltrate auf pH 3 bzw. Erhitzung auf 70°C die für eine vollständige Inaktivierung notwendigen Desinfektionsmittel-Konzentrationen erheblich kleiner waren (Tabelle 22). Diese Verbes-

Tabelle 22: Für die vollständige Inaktivierung von originären SE-Kulturfiltraten erforderliche minimale Endkonzentrationen von CAT, KMnO_4 bzw. PES bei Zimmertemperatur, nach Erhitzung auf 70°C sowie Einstellung der Kulturfiltrat-Desinfektionsmittel-Gemische auf pH 3 (Reaktionszeit: 10 min)

SE-Typ u. Endkonzentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Protein- endkonzentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Art des Desinfektionsmittels und minimale Endkonzentration (%)					
		CAT			KMnO_4		
		Zimmer- temperat.	70°C	pH 3	Zimmer- temperat.	70°C	pH 3
SEA 7	3325	5	1	1	0,5	0,25	0,25
SEB 70	3000	3,75	1	0,25	0,75	0,5	0,2
SEC ₁ 18,5	3170	3,75	2,5	0,5	0,75	0,5	0,25
SEE 0,85	4125	3,75	./.	./.	0,5	./.	./.

serung betraf insbesondere das Chloramin T, so daß z.B. bei auf pH 3 eingestellten Kulturfiltraten nur noch geringfügig höhere Konzentrationen als bei KMnO_4 erforderlich waren. Eine Einstellung der Kulturfiltrate auf pH 5 bzw. eine Erhitzung auf 50°C führte i.d.R. ebenfalls zu einer Wirkungssteigerung der Desinfektionsmittel, doch war der Gewinn im Vergleich zum niedrigeren pH-Wert bzw. zur höheren Temperatur deutlich geringer. Den eigenen Versuchen ist auch zu entnehmen, daß die SE-Konzentration in den Kulturfiltraten - anders als von HELBER (1977) und SCHULTE (1978) vermutet wurde - offensichtlich nur eine untergeordnete Rolle spielt und die Effektivität der Desinfektionsmittel vielmehr in erster Linie durch den Grad der Belastung mit organischen Substanzen beeinflußt wird (Tabellen 8, 14 und 17). Diese Beobachtung deckt sich mit dem Hinweis von MINOR und MARTH (1976), daß die Hitzeresistenz der Enterotoxine in erster Linie von der Reinheit des Enterotoxins abhängt, weniger aber von der Toxinkonzentration. Die Versuchsergebnisse lassen keine allgemeinen Rückschlüsse auf eine unterschiedliche Stabilität der geprüften Serotypen SEA, SEB, SEC_1 bzw. SEE zu. So war zwar für das originäre SEA-Kulturfiltrat bei Zimmertemperatur eine höhere effektive CAT-Konzentration als für SEB- bzw. SEC_1 -Kulturfiltrat erforderlich, hinsichtlich der PES-Konzentration bestanden jedoch keine Unterschiede; bei Anwendung von KMnO_4 reichte sogar eine niedrigere Konzentration zur vollständigen Inaktivierung von SEA. Nachdem eine serologische Verwandtschaft für die serologischen Typen SEA und SEE einerseits sowie SEB und SEC_1 andererseits diskutiert wird (BERGDOLL und ROBBINS, 1973; BERGDOLL, 1977; LEE et al., 1978; SPERO et al., 1978), wäre zu erwarten gewesen, daß sich - wenn überhaupt - diese Verwandtschaft auch in einer vergleichbaren Stabilität äußern würde. Dies war jedoch außer bei den Versuchen mit KMnO_4 (minimale Endkonzentration für SEA und SEE 0,5 %, für SEB und SEC_1 0,75 %) nicht der Fall. Da aber für die Herstellung der Kulturfiltrate unterschiedliche Medien für SEA, SEB bzw. SEC_1 und SEE verwendet wurden und die Belastung mit organischen Substanzen bei den Kultur-

filtraten differierte, kann davon ausgegangen werden, daß die vereinzelt Abweichungen zwischen den Serotypen in erster Linie hierauf zurückzuführen sind und der hohe Proteingehalt den möglichen Einfluß der Enterotoxintypen überlagerte. Diese Nährbodenunterschiede dürften im übrigen auch ein Grund dafür gewesen sein, daß SCHULTE (1978) bei ihren Versuchen zur Detoxifizierung von SEA-Kulturfiltrat nicht in allen Fällen die guten Ergebnisse erzielte, die zuvor HELBER (1977) bzw. LOCHER (1977) bei entsprechenden Versuchen mit SEB-Kulturfiltrat registriert hatten.

Allein aufgrund der bereits in niedrigen Konzentrationen guten Wirksamkeit würde sich KMnO_4 , aber auch PES in der Praxis eher zu Detoxifizierung von SE-Kulturfiltraten anbieten als CAT, von dem ohne zusätzliche wirkungssteigernde Maßnahmen (Ansäuerung, Erhitzung) deutlich höhere Konzentrationen zur Erreichung des gleichen Effektes notwendig sind. Bei der Beurteilung der Eignung detoxifizierender chemischer Substanzen sind jedoch noch andere Kriterien zu berücksichtigen, wie Toxizität, Haut- und Materialverträglichkeit sowie Stabilität des Mittels. Diese Kriterien sprechen für die Anwendung von Kaliumpermanganat, aber gegen die Anwendung von PES und auch CAT. Allerdings werden die Einsatzmöglichkeiten von KMnO_4 durch dessen Eigenfarbe und die Tatsache etwas eingeengt, daß bei Anwendung höherer Konzentrationen (ab etwa 0,5 %) Braunstein gebildet wird und infolgedessen eine Verfärbung des zu detoxifizierenden Materials nicht zu vermeiden ist. PES ist insbesondere aufgrund der stark korrosiven Eigenschaften und der risikoreichen Handhabung (TICHACEK, 1972) weniger gut unter praktischen Bedingungen geeignet. Außerdem ist die Stabilität verdünnter Lösungen - wie sie für die Detoxifizierung der Enterotoxine erforderlich sind - relativ begrenzt (MÜCKE und SPRÖSSIG, 1967b). Unter Berücksichtigung aller wesentlichen Kriterien empfiehlt es sich somit - unabhängig vom SE-Typ - für die Detoxifizierung von mit Kulturfiltrat kontaminierten Geräten, Glaswaren, Arbeitsplätzen und Laborräumen Kaliumpermanganat in einer Endkonzentration von mindestens 0,75 % einzusetzen und

10 min einwirken zu lassen. Sofern durch zusätzliche Einstellung des pH-Wertes von KMnO_4 -Kulturfiltrat-Gemisch auf pH 3 keine nachteiligen Veränderungen bzw. Beschädigungen des zu detoxifizierenden Objektes zu befürchten sind, ist eine derartige Behandlung vorzuziehen, da für den gleichen Zweck Endkonzentrationen von 0,25 % KMnO_4 ausreichen. Außerdem ist bei Anwendung dieser Konzentration i. a. eine Ausfällung von Braunstein nicht zu beobachten. Eine Erhitzung des KMnO_4 -Kulturfiltrat-Gemisches auf 70°C , die unter praktischen Bedingungen nur in Ausnahmefällen zur Diskussion stehen dürfte, erbringt demgegenüber keine wesentlichen Vorteile im Vergleich zur Detoxifizierung mit KMnO_4 ohne zusätzliche Maßnahmen. Sofern sich der Einsatz von KMnO_4 aufgrund der Eigenfarbe bzw. der Braunsteinbildung verbieten sollte, sollte in Abhängigkeit vom geplanten Einsatzbereich geprüft werden, ob PES (Endkonzentration: 1 %) zur Anwendung kommen kann oder auf CAT (Endkonzentration: 5 % - bei Ansäuerung auf pH 3: 1 %) ausgewichen werden muß.

In einem zweiten Versuchsabschnitt wurde - wie bereits erwähnt - die Wirksamkeit von Chloramin T, Kaliumpermanganat, Peressigsäure sowie Jod zur Aufbereitung von mit SEA- bzw. SEB-Kulturfiltraten kontaminierten Trinkwassers geprüft. Die Kulturfiltrate wurden nicht gechlortem Münchener Trinkwasser ($16,2^\circ\text{dH}$) in solchen Mengen zugesetzt, daß grobsinnlich keine Veränderungen der Beschaffenheit des Wassers (Aussehen, Geruch, Geschmack) festzustellen waren. Die sich daraus ergebenden Enterotoxin-Konzentrationen ($0,32\text{ }\mu\text{g SEA/ml}$; $0,35\text{ }\mu\text{g SEB/ml}$) waren so hoch, daß bei Konsum von etwa 30 ml eines derart kontaminierten Trinkwassers die mittlere krankmachende Dosis (ID_{50}) des Menschen erreicht würde (DANGERFIELD, 1973).

Eine vollständige Inaktivierung der Enterotoxine war innerhalb der geprüften Reaktionszeiten (10 bzw. 30 min) nur mit Kaliumpermanganat und Jod in Endkonzentrationen von jeweils 25 mg/l (SEA-haltiges Trinkwasser) bzw. 50 mg/l (SEB-haltiges Trinkwasser) möglich. Chloramin T und Peressigsäure hatten - selbst in Konzentrationen von 200 mg/l -

keine detoxifizierende Wirkung. Durch stufenweises Absenken des pH-Wertes mit SEB kontaminierten Trinkwassers von 7,5 auf 6,0 konnten die wirksamen Konzentrationen von Kaliumpermanganat bis auf 10 mg/l gesenkt werden, nicht aber diejenigen von Jod. Hier ergibt sich hinsichtlich des fehlenden Einflusses des pH-Wertes bei Jod eine Parallele zu seiner bakteriziden und viruziden Eigenschaft. Auch in diesen Einsatzgebieten war die Wirkung in dem entsprechenden pH-Bereich konstant (GOTTARDI, 1978; MAHNEL, 1977). Durch Erhitzung auf 50°C konnte demgegenüber die detoxifizierende Wirkung von Kaliumpermanganat ebenso wenig verbessert werden wie jene von Jod. Auch bei den SE-Kulturfiltraten (erster Versuchsabschnitt) hatte KMnO_4 keine Wirkungssteigerung bei Erhitzung auf 50°C erkennen lassen. Auch bei Verlängerung der Reaktionszeit von 10 auf 30 min war - wie bereits bei den Kulturfiltraten - in keinem Fall eine Verbesserung der Wirkung o.a. Desinfektionsmittel auf SEB-kontaminiertes Trinkwasser erkennbar.

Ein Vergleich dieser Versuchsergebnisse mit denen anderer Autoren ist nur bedingt möglich, da Angaben über entsprechende Untersuchungen mit KMnO_4 , PES oder Jod überhaupt nicht vorliegen und die einzigen mit Chlorverbindungen - allerdings an etwa 20 % reinem SEB - durchgeführten Modellversuche sich auf Calciumhypochlorit (MEYER et al., 1977) und nicht auf CAT beziehen. Diese Autoren berichteten, daß nach einstündiger Einwirkung von 50 ppm Chlor in alkalischer Phase eine Konzentration von 50 µg SEB/ml Trinkwasser sicher inaktiviert wurde, nach Einwirkung von 10 ppm Chlor aber noch geringe Toxinaktivitäten nachgewiesen wurden. Bei einem durchschnittlichen Aktivchlorgehalt des Chloramin T von 25 % (NEUMÜLLER, 1972/1977) entsprächen diese 50 ppm Chlor 200 mg CAT/ml Wasser. Mit dieser Konzentration konnte allerdings in den eigenen Versuchen innerhalb von 30 min keine wesentliche Inaktivierung von SEB-Kulturfiltrat (0,35 µg SEB/ml Trinkwasser) erzielt werden. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß von MEYER et al. (1977) ein etwa 20 % reines SEB eingesetzt wurde und folglich der Eiweißgehalt geringer war (Angaben hierüber wurden

von den Autoren nicht gemacht) als bei den in den eigenem Versuch eingesetzten SEB-Kulturfiltrat (Proteingehalt des kontaminierten Wassers: 15 µg/ml). Hierfür spricht auch, daß MEYER et al. (1977) für die Detoxifizierung von Oberflächenwasser mit 50 µg SEB/ml über 200 ppm Chlor (das entspräche 800 mg CAT/ml) benötigten. Außerdem können die Unterschiede möglicherweise zum Teil dadurch bedingt sein, daß einerseits lyophilisiertes (MEYER et al., 1977), andererseits natives SEB-Material benutzt wurde und daß außerdem CAT im Vergleich zu Hypochloritlösungen Chlor wesentlich langsamer freigibt (WALLHÄUSSER, 1978) und bei den eigenen Versuchen die Reaktionszeit maximal nur 30 min betrug - bei MEYER et al. aber 60 min.

Ein orientierender Vergleich der gegenüber SE-haltigem Trinkwasser wirksamen Desinfektionsmittel-Konzentrationen mit denjenigen, die in der Literatur zur Trinkwasserdesinfektion angegeben werden, zeigt, daß die von BOLEK et al. (1972) sowie EGGENSBERGER (1975) vorgeschlagenen 0,005 % CAT (= 50 mg/l) erheblich niedriger liegen, andererseits aber WALLHÄUSSER (1978) zur Trinkwasserentkeimung eine Konzentration von 0,05 % CAT (= 500 mg/l) als notwendig erachtete. Nach Empfehlungen der WHO sollen zur Virusinaktivierung 0,5 mg freies Chlor/l (entspricht etwa 2 mg CAT/l) bei einer Einwirkzeit von einer Stunde genügen (CARLSON, 1980), doch hatte MAHNEL (1977) darauf hingewiesen, daß behüllte Viren durch 300 mg CAT/l, kleine unbehüllte Viren erst ab 1 g CAT/l inaktiviert werden. Über die Eignung von KMnO_4 bzw. PES zur Trinkwasserdesinfektion lagen bisher keine umfassenden Untersuchungen vor, wenn man von denen von VEGER (1967) sowie MAHNEL (1977) absieht. Peressigsäure hatte in den von VEGER (1967) zur Trinkwasserdesinfektion empfohlenen Dosierungen von 1 mg/l (30 min) bzw. 10 mg/l (10 min) jedoch keine detoxifizierende Wirkung, während die zur Virusinaktivierung erforderliche KMnO_4 -Konzentration mit 30 mg/l (MAHNEL, 1977) zur Detoxifizierung mit SEA-Kulturfiltrat kontaminierten Trinkwassers vollständig ausreichte. Eine vollständige Detoxifizierung mit SEB-Kulturfiltrat kontaminierten Trinkwassers war mit dieser Konzentration

allerdings erst nach Einstellung des pH-Wertes auf mindestens pH 7,0 zu erreichen.

Für die Detoxifizierung von mit ungereinigten Staphylokokken-Enterotoxinen kontaminiertem Trinkwasser ist unter praktischen Bedingungen aufgrund der eigenen Ergebnisse nur Kaliumpermanganat geeignet, zumal das ebenfalls eine vollständig inaktivierende Wirkung hervorrufende Jod nach Angaben von CARLSON (1980) aus medizinischen Erwägungen nicht zur Trinkwasserdesinfektion eingesetzt werden kann. Die ohne Veränderung der Temperatur bzw. des pH-Wertes des mit Kulturfiltrat kontaminierten Wassers voll wirksamen KMnO_4 -Konzentrationen liegen jedoch für SEA (25 mg/l) nur knapp unterhalb der von MAHNEL (1977) genannten Grenze für gute Genießbarkeit des Trinkwassers (30 mg/l), für SEB (50 mg/l) deutlich darüber. Es wäre daher in Betracht zu ziehen, ob nicht die Möglichkeit einer Einstellung des pH-Wertes im Trinkwasser genutzt werden sollte, die entsprechend der Trinkwasser-Aufbereitungs-Verordnung (1959) mit Schwefelsäure oder Salzsäure unter der Voraussetzung vorgenommen werden kann, daß das Kalk-Kohlensäure-Gleichgewicht erhalten bleibt. Bei einer Senkung des pH-Wertes auf pH 6,0, die bei den eigenen Versuchen ohne Einfluß auf die Genießbarkeit des Trinkwassers war, könnte nämlich die minimale KMnO_4 -Konzentration für SE-Detoxifizierung auf 10 mg/l gesenkt werden. Unabhängig davon, ob diese SE-Detoxifizierung mit oder ohne Ansäuerung des Trinkwassers vorgenommen wird, ist anschließend eine weitere Aufbereitung des Trinkwassers (z.B. Aktivkohlebehandlung) unerlässlich. Durch Adsorption an Aktivkohle läßt sich nicht nur ein Teil der KMnO_4 -Rückstände, sondern auch die KMnO_4 -bedingte Verfärbung des Trinkwassers beseitigen. Gemäß der bereits erwähnten Trinkwasser-Aufbereitungs-Verordnung dürfen nach abgeschlossener Aufbereitung im Trinkwasser nämlich nicht mehr als 0,1 mg Kaliumpermanganat/l, berechnet als Mangan, einschließlich des natürlichen Mangangehaltes des Trinkwassers vorhanden sein. Im Falle einer absichtlichen Kontamination der Trinkwasserversorgung mit Staphylokokken-Enterotoxinen ist jedoch gegebenenfalls auch auf die weite-

re Aufbereitung des mit KMnO_4 detoxifizierten Wassers zu verzichten, zumal die Genießbarkeit durch den KMnO_4 -Gehalt bei zusätzlicher Ansäuerung bis pH 6,0 nicht beeinträchtigt wird.

Abschließend sei noch darauf hingewiesen, daß bei den eigenen Versuchen nur geprüft wurde, ob und inwieweit die serologische Aktivität der Staphylokokken-Enterotoxine durch Chloramin T, Kaliumpermanganat bzw. Peressigsäure beeinflusst werden kann. Die Wirkung dieser Desinfektionsmittel auf die biologische Aktivität konnte nicht getestet werden, weil die für den gesicherten Nachweis der biologischen Aktivität erforderlichen Versuchstiere (Rhesusaffen) nicht zur Verfügung standen. Da aber in den meisten in der Literatur bisher beschriebenen Versuchen zur Inaktivierung von SE weitgehende Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen der serologischen Nachweisverfahren und der biologischen Tests bestand (BERGDOLL, 1970; ZIETZER, 1978), ist die Annahme gerechtfertigt, daß dies auch für die eigenen Versuche zutrifft.

5. Zusammenfassung

1. Im ersten Versuchsabschnitt wurde der Einfluß der Desinfektionsmittel Chloramin T (CAT), Kaliumpermanganat (KMnO_4) bzw. Peressigsäure (PES) auf die serologische Aktivität der Staphylokokken-Enterotoxine A, B, C_1 und E untersucht. Die Einwirkung der Mittel in unterschiedlichen Konzentrationen wurde bei Zimmertemperatur bzw. höheren Temperaturen (50°C bzw. 70°C) sowie (außer bei PES) nach Einstellung des Enterotoxin-Desinfektionsmittel-Gemisches auf pH 3, pH 5 bzw. pH 11 geprüft. Die Enterotoxine lagen als originäre oder als im Enterotoxin- bzw. Proteingehalt veränderte enterotoxinhaltige Kulturfiltrate vor. Der serologische Nachweis der Staphylokokken-Enterotoxine (SE) vor und nach Einwirkung der Desinfektionsmittel erfolgte im Mancini- und Ouchterlony-Test.
2. Bei Zimmertemperatur waren alle drei Desinfektionsmittel bereits bei der kürzesten geprüften Reaktionszeit von 10 min in der Lage, die originären Kulturfiltrate (Endkonzentrationen von 0,85 bis $70\text{ }\mu\text{g SE/ml}$ bzw. 3000 - $4125\text{ }\mu\text{g Protein/ml}$) vollständig zu inaktivieren, und zwar bei effektiven Konzentrationen von 3,75 - 5 % (CAT), 0,5 - 0,75 % (KMnO_4) bzw. 1 % (PES). Eine Verlängerung der Reaktionszeit von 10 auf 30 bzw. 60 min erbrachte keine wesentliche Verstärkung der Effektivität. Bei Ansäuerung der Kulturfiltrat-Desinfektionsmittel-Gemische auf pH 3 bzw. Erhitzung auf 70°C waren wesentlich geringere Konzentrationen erforderlich (CAT: 0,25 - 2,5 %, KMnO_4 : 0,2 - 0,5 %, PES - nur bei 70°C getestet -: 0,05 - 0,25 %). Bei pH 5 bzw. Erhitzung auf 50°C war ebenfalls noch eine Wirkungssteigerung der Desinfektionsmittel festzustellen, nicht aber mehr bei Einstellung auf pH 11.
3. SE-Kulturfiltrate mit niedrigerem Proteingehalt (Endkonzentrationen von 117,5 - $1800\text{ }\mu\text{g/ml}$) ließen sich mit geringeren Desinfektionsmittelkonzentrationen detoxifizieren als die originären Kulturfiltrate. Demgegenüber war bei vergleichbarem Proteingehalt, aber vermindertem SE-Gehalt der Kulturfiltrate kaum ein Einfluß auf die Wirkung der

Desinfektionsmittel gegeben.

4. Hinsichtlich der Stabilität der Enterotoxin-Typen gegenüber den geprüften Desinfektionsmitteln waren keine signifikanten Unterschiede feststellbar.
5. Im zweiten Versuchsabschnitt wurde die Wirkung von Chloramin T, Kaliumpermanganat, Peressigsäure bzw. Jod auf die serologische Aktivität mit Kulturfiltrat kontaminierten Trinkwassers ($0,32 \mu\text{g SEA/ml}$ bzw. $0,35 \mu\text{g SEB/ml}$) geprüft, das organoleptisch nicht von reinem Trinkwasser zu unterscheiden war. Der SE-Nachweis erfolgte im Mancini-Test.
6. Bei Zimmertemperatur konnte das kontaminierte Trinkwasser nur durch Kaliumpermanganat und Jod detoxifiziert werden ($25 - 50 \text{ mg/l}$), während Chloramin T und Peressigsäure - selbst in Konzentrationen von 200 mg/l - nicht wirksam waren. Durch Senken des pH-Wertes des Trinkwassers von 7,5 auf 6,0 konnte die wirksame Konzentration von Kaliumpermanganat (nicht aber Jod) auf 10 mg/l verringert werden; eine Erhitzung auf 50°C erbrachte jedoch keine Verbesserung der Wirkung von KMnO_4 oder Jod.
7. Kaliumpermanganat ist von den geprüften Desinfektionsmitteln am besten zur Detoxifizierung von Staphylokokken-Enterotoxinen geeignet.

Summary

1. In the first section of experiments the influence of the disinfectants chloramine T (CAT), potassium permanganate (KMnO_4) and peracetic acid (PAA) on the serological activity of staphylococcal enterotoxins A, B, C_1 and E was tested. The effect of the disinfectants in different concentrations was tested at room temperature, at higher temperatures (50°C and 70°C , respectively) and (except PAA) by adjusting the mixture of enterotoxin and disinfectant to pH 3, pH 5 and pH 11. As enterotoxins were used original culture filtrates containing enterotoxin as well as culture filtrates modified in enterotoxin and protein concentration. Staphylococcal enterotoxins (SE) were determined serologically by Mancini- and Ouchterlony-technique before and after their reaction with the disinfectants.
2. At room temperature all three disinfectants inactivated completely the original SE-culture filtrates (final concentrations $0.85 - 70 \mu\text{g SE/ml}$ and $3,000 - 4,125 \mu\text{g protein/ml}$, respectively) even within the shortest tested time of 10 minutes. This was achieved with effective concentrations of 3.75 - 5 % (CAT), 0.5 - 0.75 % (KMnO_4) and 1 % (PAA), respectively. Extending the time from 10 to 30 or 60 minutes did not result in any considerable improvement of effectivity of the disinfectants. After adjusting the mixtures of culture filtrate and disinfectant to pH 3 or after heating to 70°C considerably lower concentrations were required for the same purpose (CAT: 0.25 - 2.5 %, KMnO_4 : 0.2 - 0.5 %, PAA - only tested at 70°C -: 0.05 - 0.25 %). At pH 5 or 50°C an increase of the effect of the disinfectants was still detectable but not if the mixture was adjusted to pH 11.
3. SE-culture filtrates with lower protein concentrations (final concentrations $117.5 - 1,800 \mu\text{g/ml}$) could be detoxified with lower concentrations of disinfectants than the original culture filtrates. In contrast to this a lowering of the SE-concentration at comparable protein concentrations of the culture filtrates had scarcely any influence on the effect of the disinfectants.

4. No significant differences could be observed with regard to the stability of the enterotoxin types against the tested disinfectants.
5. In the second section of experiments the effect of chloramine T, potassium permanganate, peracetic acid and iodine on the serological activity of drinking water contaminated with culture filtrate (0.32 μ g SEA/ml and 0.35 μ g SEB/ml, respectively) was tested. Contaminated drinking water could not be distinguished organoleptically from pure drinking water. SE was determined by Mancini-technique.
6. At room temperature contaminated drinking water could only be detoxified by potassium permanganate and iodine (25 - 50 mg/l) whereas chloramine T and peracetic acid - even in concentrations of 200 mg/l - were not effective. By lowering the pH of drinking water from 7.5 to 6.0 the effective concentration of potassium permanganate (but not iodine) could be reduced to 10 mg/l; heating to 50°C however did not improve the effect of KMnO_4 or iodine.
7. Potassium permanganate can be recommended for the detoxification of staphylococcal enterotoxins.

6. Literaturverzeichnis

ATASSI, M. Z. (1977):

Chemical modification and cleavage of proteins and chemical strategy in immunochemical studies of proteins.

Immunochemistry of proteins. Vol. 1.

Plenum Press, New York und London, 1-161.

AVENA, R. M. und M. S. BERGDOLL (1967):

Purification and some physicochemical properties of enterotoxin C, *Staphylococcus aureus* strain 361.

Biochemistry 6, 1474-1480.

AXT, G. (1970):

Technologie und Analyse der Entkeimungsmittel.

SchrReihe Ver. Wass. -Boden-Lufthyg. 31, 105-116.

BÄR, F. (1970):

Zur Toxikologie der Wasserdesinfektionsmittel.

SchrReihe Ver. Wass. -Boden-Lufthyg. 31, 49-56.

BENNETT, R. W. (1978):

Antibody production and antigenicity of heat altered staphylococcal enterotoxin.

Abstr. Ann. Meet. Am. Soc. Microbiol., p. 189.

BENNETT, R. W., J. G. BRADSHAW und W. T. AMOS (1977):

Biological and serological activities of heated staphylococcal enterotoxin A.

Abstr. Ann. Meet. Am. Soc. Microbiol., p. 257.

BERGDOLL, M. S. (1970):

Enterotoxins. in: MONTIE, T. C., S. KADIS und S. J. AJL (1970):

Microbial toxins. Vol. 3, 265-326. Academic Press, New York und London.

DERSELBE (1972):

The enterotoxins. in: COHEN, J. O. (1972): The staphylococci.

Wiley-Interscience, New York, London, Sidney, Toronto, 301-331.

DERSELBE (1977):

Immunological aspects of staphylococcal enterotoxins.

in: CATSIMPOOLAS, N. (1977): Immunological aspects of foods.
The AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, 199-220.

DERSELBE (1979):

Persönliche Mitteilung.

DERSELBE (1980):

Persönliche Mitteilung.

BERGDOLL, M.S. und R.N. ROBBINS (1973):

Characterization of types of staphylococcal enterotoxins.

J. Milk Food Technol. 36, 610-612.

BERGDOLL, M.S., C.R. BORJA und R.M. AVENA (1965):

Identification of a new enterotoxin as enterotoxin C.

J. Bacteriol. 90, 1481-1485.

BERGDOLL, M.S., I.-Y. HUANG und E.J. SCHANTZ (1974):

Chemistry of the staphylococcal enterotoxins.

J. Agr. Food Chem. 22, 9-13.

BERGDOLL, M.S., M.J. SURGALLA und G.M. DACK (1959a):

Staphylococcal enterotoxin. Identification of a specific precipitating antibody with enterotoxin-neutralizing property.

J. Immunol. 83, 334-338.

BERGDOLL, M.S., H. SUGIYAMA und G.M. DACK (1959b):

Staphylococcal enterotoxin. I. Purification.

Arch. Biochem. Biophys. 85, 62-69.

BERGDOLL, M.S., C.R. BORJA, R.N. ROBBINS und K.F. WEISS (1971):

Identification of enterotoxin E.

Infect. Immun. 4, 593-595.

BOLEK, S., V. BOLKOVA und H. SCHWOTZER (1972):

Halogene und Halogenverbindungen. in: HORN, H., M. PRIVORA und W.F. WEUFFEN (1972): Handbuch der Desinfektion, Bd. 1. VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin, 132-161.

BORJA, C.R. (1969):

Staphylococcal Enterotoxin C.

I. Phenolic hydroxyl ionization.

Biochemistry 8, 71-75.

BORJA, C.R. und M.S. BERGDOLL (1967):

Purification and partial characterization of enterotoxin C produced by Staphylococcus aureus strain 137.

Biochemistry 6, 1467-1473.

DIESELBEN (1969):

Staphylococcal enterotoxin C.

II. Some physical, immunological and toxic properties.

Biochemistry 8, 75-79.

BORJA, C.R., E. FANNING, I.-Y. HUANG und M.S. BERGDOLL (1972):

Purification and some physicochemical properties of staphylococcal enterotoxin E.

J. Biol. Chem. 247, 2456-2463.

CARLSON, S. (1970):

Das Redoxmilieu als Faktor der Keimabtötung.

SchrReihe Ver. Wass.-Boden-Lufthyg. 31, 21-39.

DERSELBE (1980):

Viren und Wasser.

Schriftenreihe d. Schweizerischen Gesellschaft für Lebensmittelhygiene, Heft 9, 61-74.

CARLSON, S., U. HÄSSELBARTH und F.W. SOHN (1976):

Untersuchungen über Virusinaktivierung durch Chlor bei der Wasserdesinfektion.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 162, 320-329.

CASMAN, E.P. (1960):

Further serological studies of staphylococcal enterotoxin.

J. Bacteriol. 79, 849-856.

CASMAN, E.P., M.S. BERGDOLL und J. ROBINSON (1963):

Designation of staphylococcal enterotoxins.

J. Bacteriol. 85, 715-716.

CASMAN, E.P., R.W. BENNETT, A.E. DORSEY und J.A. ISSA (1967):

Identification of a fourth staphylococcal enterotoxin, enterotoxin D.

J. Bacteriol. 94, 1875-1882.

CHANG, H.-C. und M.S. BERGDOLL (1979):

Purification and some physicochemical properties of staphylococcal enterotoxin D.

Biochemistry 18, 1937-1942.

CHANG, S.L. und J.C. MORRIS (1953):

Elemental iodine as a disinfectant of drinking water.

Indust. Eng. Chem. 45, 1009-1012.

CHORDASH, R.A. und N.N. POTTER (1976):

Stability of staphylococcal enterotoxin A to selected conditions encountered in foods.

J. Food Sci. 41, 906-909.

CHU, F.S. (1968):

Hydrogen ion equilibria of staphylococcal enterotoxin B.

J. Biol. Chem. 243, 4342-4349.

CHU, F.S. und M.S. BERGDOLL (1969):

Studies on the chemical modification of staphylococcal enterotoxin B.

I. Alkylation and oxidation of methionine residues.

Biochim. Biophys. Acta 194, 279-286.

CHU, F.S. und E. CRARY (1969):

Studies on the chemical modification of staphylococcal enterotoxin B.

II. Carboxyl residues.

Biochim. Biophys. Acta 194, 287-292.

CHU, F.S., E. CRARY und M.S. BERGDOLL (1969):

Chemical modification of amino groups in staphylococcal enterotoxin B.
Biochemistry 8, 2890-2896.

CHU, F.S., K. THADHANI, E. SCHANTZ und M.S. BERGDOLL (1966):

Purification and characterization of staphylococcal enterotoxin A.
Biochemistry 5, 3281-3289.

CLARKE, N.A. und P.W. KABLER (1968):

Disinfection of drinking water, swimming pool water and treated sewage effluents. in: LAWRENCE, L.A. und S.S. BLOCK (1968): Disinfection, sterilization and preservation. Lea und Febiger, Philadelphia, 655-668.

DALIDOWICZ, J.E., S.J. SILVERMAN, E.J. SCHANTZ, D. STEFANYE und L. SPERO (1966):

Chemical and biological properties of reduced and alkylated staphylococcal enterotoxin B.
Biochemistry 5, 2375-2381.

DANGERFIELD, H.G. (1973):

Effects of enterotoxins after ingestion by humans.
Vortrag, Ann. Meet. Am. Soc. Microbiol.

DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR HYGIENE UND MIKROBIOLOGIE
- DGHM - (1972):

Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel. 3. Aufl.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

DYCHDALA, G.R. (1968):

Chlorine and chlorine compounds. in: LAWRENCE, L.A. und S.S. BLOCK (1968): Disinfection, sterilization and preservation.
Lea und Febiger, Philadelphia, 278-304.

EGGENSPERGER, H. (1975):

Desinfektionswirkstoffe und ihre Wirkungsmechanismen.
Hospital-Hygiene, Gesundheitswesen und Desinfektion 67, 321-329.

DERSELBE (1979):

Desinfektionsmittel auf der Basis persäureabspaltender Verbindungen.
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 168, 517-524.

FISCHER, P., E. THOFERN und K. BOTZENHART (1978):

Vergleichende Untersuchungen zur Wirksamkeit von Chlor und Ozon
auf Bakterien und Sporen.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 166, 399-407.

GOTTARDI, W. (1976):

Über die Reaktion von Chlor, Brom, Jod und einigen N-Chlor- und
N-Bromverbindungen mit Pepton in wässriger Lösung.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 162, 384-388.

DERSELBE (1977):

Wässrige Chlor- und Bromlösungen als Desinfektionsmittel.
Zusammensetzung, Redoxpotential, Reaktivitätsunterschiede.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 165, 235-241.

DERSELBE (1978):

Wässrige Jodlösungen als Desinfektionsmittel: Zusammensetzung, Sta-
bilität, Vergleich mit Chlor- und Bromlösungen.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 167, 206-215.

DERSELBE (1980):

Redoxpotential und keimtötende Wirkung von wässrigen Halogenlösungen.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 170, 422-430.

GOTTARDI, W. und M. PURITSCHER (1976):

Über das keimtötende Verhalten von Dibromisocyanursäure; Versuche
zur Händedesinfektion.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 162, 380-383.

GRUBER, J. und G.G. WRIGHT (1969):

Ammoniumsulfate coprecipitation antibody determination with purified
staphylococcal enterotoxins.

J. Bacteriol. 99, 18-24.

HABEEB, A.F.S.A. (1977):

Influence of conformation on immunochemical properties of proteins.

in: ATASSI, M.Z. (1977): Immunochemistry of proteins. Vol. 1

Plenum Press, New York und London, 163-229.

HÄSSELBARTH, U. (1968):

Bestimmung von freiem und gebundenem wirksamen Chlor.

Z. Anal. Chem. 234, 22-37.

DERSELBE (1970):

Die Einstellung desinfizierend wirkender Redoxpotentiale durch Chlorung.

SchrReihe Ver. Wass.-Boden-Lufthyg. 31, 119-131.

HEICKEN, K. (1956):

Über die Desinfektion infektiöser Abwässer.

Zbl. Bakt. I. Orig. 165, 156-197.

HELBER, W. (1977):

Zur Inaktivierung von Staphylokokkenenterotoxin B mittels chemischer Verfahren.

Vet. med. Diss., München.

HÖLL, K. (1979):

Wasser. Untersuchung, Beurteilung, Aufbereitung, Chemie, Bakteriologie, Virologie, Biologie. 6. Aufl.

Walter de Gruyter, Berlin, New York.

HOLLEMANN, A.F. und E. WIBERG (1971):

Lehrbuch der anorganischen Chemie. 71.-80. Aufl.

Verlag Walter de Gruyter, Berlin.

HUANG, I.-Y. und M.S. BERGDOLL (1970):

The primary structure of staphylococcal enterotoxin B. III. The cyanogen bromide peptides of reduced and aminoethylated enterotoxin B and the complete amino acid sequence.

J. Biol. Chem. 245, 3518-3525.

HUANG, I.-Y., E. SCHANTZ und M.S. BERGDOLL (1975):

The amino acid sequence of the staphylococcal enterotoxins.

Jap. J. Med. Sci. Biol. 27, 73-75.

HUANG, I.-Y., T. SHIH, C.R. BORJA, R.M. AVENA und M.S. BERGDOLL (1967):

Amino acid composition and terminal amino acids of staphylococcus enterotoxin C.

Biochemistry 6, 1480-1484.

HUMBER, J. Y., C.B. DENNY und C.W. BOHRER (1975):

Influence of pH on the heat inactivation of staphylococcal enterotoxin A as determined by monkey feeding and serological assay.

Appl. Microbiol. 30, 755-758.

JAMLANG, E.M., M.L. BARTLETT und H.E. SNYDER (1971):

Effect of pH, protein concentration and ionic strength on heat inactivation of staphylococcal enterotoxin B.

Appl. Microbiol. 22, 1034-1040.

JOHNSON, H.M., J.A. BUKOVIC und P.E. KAUFFMAN (1972):

Antigenic cross-reactivity of staphylococcal enterotoxins.

Infect. Immun. 5, 645-647.

KATO, E., M. KHAN, L. KUJOVICHIA und M.S. BERGDOLL (1966):

Production of enterotoxin A.

Appl. Microbiol. 14, 966-972.

KRETZSCHMAR, Ch., R. AGERTH, R. BAUCH und D. FRIEDRICH (1972):

Peressigsäure - nur ein neues Desinfektionsmittel?

Mh. Veterinärmedizin 27, 324-332.

KUSCHINSKY, G. und H. LÜLLMANN (1974):

Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie. 6. Aufl.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

LEE, A.C.M., R.N. ROBBINS und M.S. BERGDOLL (1978):

Isolation of specific and common antibodies to staphylococcal enterotoxins A and E by affinity chromatography.

Infect. Immun. 21, 387-391.

LOCHER, E. (1977):

Zur Stabilität von Enterotoxin B gegenüber physikalischen Einflüssen.
Vet. med. Diss., München.

LOWRY, O. H., N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR und R. J. RANDALL (1951):

Protein measurement with the folin phenol reagent.

J. Biol. Chem. 193, 265-275.

MAHNEL, H. (1977):

Untersuchungen zur Virusinaktivierung in Trink- und Oberflächenwasser.
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 165, 527-538.

MANCINI, G., A. O. CARBONARA und J. F. HEREMANS (1965):

Immunochemical quantitations of antigens by single radial immuno-
diffusion.

Immunochem. 2, 235-254.

MEHLHORN, G. (1979):

Lehrbuch der Tierhygiene. Band I.

VEB Gustav Fischer, Jena.

MERKA, V. (1972):

Oxydantien. in: HORN, H., M. PRIVORA und W. F. WEUFFEN (1972):
Handbuch der Desinfektion. Band 1.

VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin, 116-131.

MEYER, G., J. HINTERBERGER und R. KORTE (1977):

Detoxifizierung von Staphylokokken-Enterotoxin B in Wasser.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 164, 352-359.

MIDDLEBROOK, J. L., L. SPERO und P. ARGOS (1980):

The secondary structure of staphylococcal enterotoxins A, B and C.
Biochim. Biophys. Acta 621, 233-240.

MINOR, T. E. und E. H. MARTH (1976):

Staphylococci and their significance in foods.

Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, Oxford,
New York.

MOESCHLIN, S. (1980):

Klinik und Therapie der Vergiftungen. 6. Aufl.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.

MROZEK, H. (1978):

Peressigsäure - ein Schritt zur Chemo-Kaltsterilisation.

Arch. Lebensmittelhyg. 29, 185-187.

MÜCKE, H. und M. SPRÖSSIG (1967a):

Über die antimikrobielle Wirkung der Peressigsäure. I. Mitteilung: Herstellung, Gehaltsbestimmung und Eigenschaften der Peressigsäure.

Pharmazie 22, 444-445.

DIESELBEN (1967b):

Über die antimikrobielle Wirkung der Peressigsäure.

II. Mitteilung: Untersuchungen zur Stabilität der Peressigsäure.

Pharmazie 22, 446-447.

MUNOZ, P.A., J.R. WARREN und M.E. NOELKEN (1976):

β -structure of aqueous staphylococcal enterotoxin B by spectropolarimetry and sequence-based conformational predictions.

Biochemistry 15, 4666-4670.

NEUMÜLLER, O.A. (1972/1977):

Römp's Chemie Lexikon. 7. Aufl.

Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart.

PALIN, A.T. (1975):

Water disinfection - chemical aspects and analytical control.

in: JOHNSON, J.D. (1975): Disinfection, water and wastewater.

Ann Arbor Science Publishers, Inc., Ann Arbor, Mich., 67-89.

PAZDIORA, A. (1972):

Händedesinfektion mit Peressigsäure.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 155, 420-423.

PFEIFFER, E.H. (1978):

Über die Schädigung der Wasserchlorung unter besonderer Berücksichtigung der Frage der Kokkanzerogenität von Chlor.

I. Mitteilung: Ein Literaturüberblick.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 166, 169-184.

POPP, L. (1954):

Bakteriologische Studien über die Chlorwirkung bei der Wasserentkeimung.

Gas-Wasser-Fach 95, 100; zit. nach: PFEIFFER, E.H. (1978).

READ, R.B. und J.G. BRADSHAW (1966):

Thermal inactivation of staphylococcal enterotoxin B in Veronal buffer.

Appl. Microbiol. 14, 130-134.

REISER, R.F. und K.F. WEISS (1969):

Production of staphylococcal enterotoxins A, B, and C in various media.

Appl. Microbiol. 18, 1041-1043.

SATTERLEE, L.D. und A.A. KRAFT (1969):

Effect of meat and isolated meat proteins on the thermal inactivation of staphylococcal enterotoxin B.

Appl. Microbiol. 17, 906-909.

SCHANTZ, E.J., W.G. ROESSLER, J. WAGMAN, L. SPERO,

D.A. DUNNERY und M.S. BERGDOLL (1965):

Purification of staphylococcal enterotoxin B.

Biochemistry 4, 1011-1016.

SCHANTZ, E.J., W.G. ROESSLER, M.J. WOODBURN, J.M. LYNCH, H.M. JACOBY, S.J. SILVERMAN, J.C. GORMAN und L. SPERO (1972):

Purification and some chemical and physical properties of staphylococcal enterotoxin A.

Biochemistry 11, 360-366.

SCHULTE, L. (1978):

Zur Stabilität von Staphylokokken-Enterotoxin A gegenüber physikalischen und chemischen Einflüssen.

Vet. med. Diss., München.

SOMMERFELD, P. und G. TERPLAN (1975):

Methoden zum Nachweis von Staphylokokken-Enterotoxinen.

Arch. Lebensmittelhyg. 26, 128-137.

SOO, H.M., S.R. TATINI und R.W. BENNETT (1973a):

Thermal inactivation of staphylococcal enterotoxins A and D in certain foods.

Abstr. Ann. Meet. Am. Soc. Microbiol., p. 14.

zit. nach: TATINI, S.R. (1976).

DIESELBEN (1973b):

Thermal inactivation of staphylococcal enterotoxins A and D.

Abstr. Ann. Meet. Am. Soc. Microbiol., p. 1.

zit. nach: TATINI, S.R. (1976).

SPERO, L., B.A. MORLOCK und J.F. METZGER (1978):

On the cross-reactivity of staphylococcal enterotoxins A, B and C.

J. Immunol. 120, 86-89.

SPERO, L., J.R. WARREN und J.F. METZGER (1973):

Effect of single peptide bond scission by trypsin on the structure and activity of staphylococcal enterotoxin B.

J. Biol. Chem. 248, 7289-7294.

SPERO, L., B.Y. GRIFFIN, J.L. MIDDLEBROOK und J.F. METZGER (1976):

Effect of single and double peptide bond scission by trypsin on the structure and activity of staphylococcal enterotoxin C.

J. Biol. Chem. 251, 5580-5588.

SPERO, L., H.M. JACOBY, J.E. DALIDOWICZ und S.J. SILVERMAN (1971):

Guanidination and nitroguanidination of staphylococcal enterotoxin B.

Biochim. Biophys. Acta 251, 345-354.

SPERO, L., J.F. METZGER, J.R. WARREN und B.Y. GRIFFIN (1975):
Biological activity and complementation of the two peptides of staphylococcal enterotoxin B formed by limited tryptic hydrolysis.

J. Biol. Chem. 250, 5026-5032.

SPERO, L., D. STEFANYE, P.I. BRECHER, H.M. JACOBY, J.E. DALIDOWICZ und E.J. SCHANTZ (1965):

Amino acid composition and terminal amino acids of staphylococcal enterotoxin B.

Biochemistry 4, 1024-1030.

SPICHER, G. (1970):

Desinfektionsmittel und Desinfektionsverfahren unter besonderer Berücksichtigung der Faktoren, die ihre Wirksamkeit und Brauchbarkeit beeinflussen.

Path. Microbiol. 36, 259-276.

SPRÖSSIG, M., H. MÜCKE und Ch. TILGNER-PETER (1967):

Über die antimikrobielle Wirkung der Peressigsäure. III. Mitteilung: Untersuchungen zur bakteriziden und sporiziden Wirkung.

Pharmazie 22, 517-519.

SPRÖSSIG, M. und H. MÜCKE (1968):

Über die antimikrobielle Wirkung der Peressigsäure.

V. Mitteilung: Untersuchungen zur viruziden Wirkung.

Pharmazie 23, 665-667.

STELMA, G.N. und M.S. BERGDOLL (1979):

Loss of toxicity in staphylococcal enterotoxin A following modification with bromoacetic acid.

Abstr. Ann. Meet. Am. Soc. Microbiol., p. 213.

TATINI, S.R. (1976):

Thermal stability of enterotoxins in food.

J. Milk Food Technol. 39, 432-438.

TERPLAN, G. und K. -J. ZAADHOF (1974):

Detoxifizierung von Toxinen mikrobiellen Ursprungs.

FBWM 74/4, Gutachten.

THIEL, N. (1977):

Zur Bedeutung der Temperatur bei der Desinfektion. (Übersichtsreferat)

Dtsch. tierärztl. Wschr. 84, 356-364.

THOTA, H., S.R. TATINI und R.W. BENNETT (1973):

Effects of temperature, pH and NaCl on production of staphylococcal enterotoxins E and F.

Abstr. Ann. Meet. Am. Soc. Microbiol., 1973, 1

zit. nach: MINOR, R.E. und E.H. MARTH (1976).

TICHACEK, B. (1972):

Peressigsäure. in: HORN, H., M. PRIVORA und W.F. WEUFFEN (1972):

Handbuch der Desinfektion, Bd. 1.

VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin, 162-177.

TRAUTWEIN, K. und G. KRÜGER (1977):

Desinfektion in der Veterinärhygiene - Theorie und Praxis.

Tierärztl. Umschau 32, 3-12, 60-74, 124-132, 185-200.

VEGER, J. (1967):

zit. nach: TICHACEK, B. (1972).

VERORDNUNG ÜBER DEN ZUSATZ FREMDER STOFFE BEI DER
AUFBEREITUNG VON TRINKWASSER (TRINKWASSER-AUFBEREITUNGS-
VERORDNUNG) (1959):

i.d.F. vom 13.12.1979.

BGBI. I, S.2328.

WAGMAN, J., R.C. EDWARDS und E.J. SCHANTZ (1965):

Molecular size, homogeneity and hydrodynamic properties of purified staphylococcal enterotoxin B.

Biochemistry 4, 1017-1023.

WALLHÄUSSER, K. -H. (1978):

Sterilisation - Desinfektion - Konservierung, 2. Aufl.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

WARREN, J.R. (1977):

Comparative kinetic stabilities of staphylococcal enterotoxin types

A, B, C₁.

J. Biol. Chem. 252, 6831-6834.

WARREN, J.R., L. SPERO und J.F. METZGER (1974a):

Stabilization of native structure by the closed disulfide loop of staphylococcal enterotoxin B.

Biochim. Biophys. Acta 359, 351-363.

DIESELBEN (1974b):

Isothermal denaturation of aqueous staphylococcal enterotoxin B by guanidine hydrochloride, urea and acid pH.

Biochemistry 13, 1678-1683.

WEBER, G. (1980):

Hygienische Anforderungen an Wasser im Hinblick auf die Verhütung von Infektionskrankheiten.

Schriftenreihe der Schweizerischen Gesellschaft für Lebensmittelhygiene, Heft 9, 18-25.

ZAADHOF, K. -J. (1980):

Vorkommen von enterotoxinbildenden Staphylokokken in Milch und Milchprodukten.

Dtsch. tierärztl. Wschr. 87, 144-145.

ZIETZER, A. (1978):

Biologische und serologische Aktivität von Staphylokokken-Enterotoxin B nach Einwirkung physikalischer und chemischer Verfahren.

Vet. med. Diss., München.

Herrn Prof. Dr. G. Terplan möchte ich für die Überlassung des Themas und für seine Unterstützung danken.

Besonders danke ich auch Herrn Dr. K.-J. Zaadhof für seine stete Hilfsbereitschaft und Beratung bei der Fertigstellung meiner Arbeit.

Schließlich gilt mein Dank den Mitarbeitern des Instituts, die zum Gelingen meiner Arbeit beigetragen haben.

Lebenslauf

Am 30.12.1952 wurde ich als Sohn des Karl Wenzel und seiner Ehefrau Rosa, geb. Kawetschanky, in München geboren. Nach dem Besuch der Volksschule trat ich 1963 in das Oskar-von-Miller-Gymnasium in München ein und legte dort 1972 die Reifeprüfung ab. Ab 1973 studierte ich Tiermedizin an der Universität München. Das Studium schloß ich im Dezember 1978 mit dem Staatsexamen ab. 1979 erhielt ich die Approbation als Tierarzt. Von April 1979 bis Dezember 1980 war ich als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl für Hygiene und Technologie der Milch beschäftigt.

